

Fluoridkonzentration im Serum nach Ethrane-Narkose
– Bestimmung mit der Ringofenmethode –

Gabriele Fink

1979

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Rechtsmedizin der Universität München

Direktor: Professor Dr.med.W.Spann

Fluoridkonzentration im Serum

nach Ethrane-Narkose

-Bestimmung mit der Ringofenmethode-

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von

Gabriele Fink

aus

München

1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Referent: Prof. Dr. med. Wolfgang Spann

Dekan: Prof. Dr. med. Wolfgang Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 12.6.1979



Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

Der experimentelle Teil der Arbeit wurde im Chemielabor des Instituts für Rechtsmedizin der Ludwig Maximilians-Universität München durchgeführt. Für die Arbeitsmöglichkeit am Institut danke ich besonders Herrn Professor Dr. med.W.Spann.

Für die Überlassung des Themas, die große Hilfsbereitschaft und die freundliche Betreuung bin ich Herrn Professor Dr.phil.nat.G.Hauck (†) zu großem Dank verpflichtet.

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Dr.G.Drasch, der mich nach dem Tode von Herrn Prof.Dr.phil.nat.G.Hauck weiter betreute und mir jederzeit Rat erteilte.

Gleichfalls möchte ich Herrn Dr.L.von Meyer und den Mitarbeitern des Chemielabors für ihre ständige Hilfsbereitschaft danken.

Schließlich möchte ich noch Herrn Dr.med.B.Grote von der Anästhesieabteilung der chirurgischen Poliklinik der Universität München für seine fachlichen Ratschläge und die Bereitstellung von Literatur danken.

INHALTSVERZEICHNIS

I) EINLEITUNG

- 1) Enflurane: physikalisch-chemische Eigenschaften
- 2) Symptome nach Narkosen mit fluorierten Kohlenwasserstoffen

II) EXPERIMENTELLER TEIL

- 1) Versuchsablauf in der Anästhesieabteilung
- 2) Fluoridnachweis im Serum
 - a) Problematik des Fluornachweises und der Abtrennung
 - b) Fluoridabtrennungsmethoden
 - c) Nachweismethoden
- 3) Ringofenmethode
 - a) Allgemeine Beschreibung
 - b) Genauer Versuchsablauf der Fluoridbestimmung mit dem Ringofen
 - c) Fluoridisolierung
- 4) Vorversuche
 - a) Tropfgeschwindigkeit
 - b) Blindproben
 - c) Standardskala
 - d) Farbstoffzerstörung
 - e) Fluoridnachweis im Blut, Vergleich mit Literaturwerten

- f) Blutprobe mit Natriumfluoridzusatz
- 5) Fluoridbestimmung in Seren aus der Anästhesie
- 6) Gefundene Fluoridkonzentrationen nach Ethrane-Narkose

III) THEORETISCHER TEIL

- 1) Diskussion
 - a) Toxizitätswerte
 - b) Einzelne erhöhte Fluoridspiegel
 - c) Faktoren, die Fluorid-Konzentrationen beeinflussen
 - d) Gegenüberstellung induzierte-nicht-induzierte Gruppe
 - e) Vergleich der Ergebnisse mit Literaturwerten
- 2) Pharmakodynamik von Inhalationsnarkotika
- 3) Metabolismus von Enflurane (Vergleich mit Methoxyfluran und Isoflurane)
- 4) Metabolisierungsschritte aus quantenchemischer Sicht
- 5) Diskussion der Stabilität fluorierter Kohlenwasserstoffe
- 6) Vergleich von organischen und anorganischen Fluorverbindungen

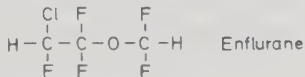
IV) ZUSAMMENFASSUNG

V) LITERATURVERZEICHNIS

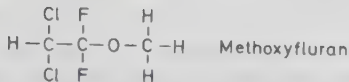
I) EINLEITUNG

1) Enflurane: physikalisch-chemische Eigenschaften

Enflurane (Synonyme: Compound 347, Ethrane) ist ein neueres Inhalationsnarkotikum, das zur Klasse der fluorierten Kohlenwasserstoffe gehört. Es besitzt folgende Strukturformel:



Die exakte Nomenklatur dieser Verbindung lautet: 2-chlor-1,1,2-trifluoräthyl-difluormethyl-äther. Im Vergleich dazu seien die Formeln der sehr gebräuchlichen Inhalationsnarkotika Halothan und Methoxyfluran angegeben. Mit letzterem ist Enflurane chemisch eng verwandt.



Die physikalisch-chemischen Eigenschaften dieser fluorierten Inhalationsnarkotika sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1: Eigenschaften von Fluor-haltigen Inhalationsnarkotika

	Enflurane	Halothan	Trichloroäthylfluoran
Molekulargewicht	184,5	197,4	165,9
Spezifisches Gewicht	1,517 (bei 25°C)	1,869 (bei 20°C)	1,429 (bei 25°C)
Siedepunkt (760 mm Hg)	55,5°C	50,2°C	104,7°C
Dampfdruck (20°C)	174,5 mm Hg	241 mm Hg	23 mm Hg
Verteilungskoeffizienten			
(37°C) Wasser/Gas	0,82	0,74	4,5
Blut/Gas	1,91	2,36	13
Öl/Gas	98,5	224	970
MAC (minimale alveolare anästhetische Konzentration;			
37°C) beim Menschen	1,68 % ^a	0,77 % ^b	0,16 % ^b
bei der Katze	1,20 % ^c	0,82 % ^c	0,23 % ^c
beim Hund	2,20 % ^d	0,87 % ^e	0,23 % ^e

^a Gion u. Saidman (1971)

^d Eger et al. (1969)

^b Saidman et al. (1967)

^e Eger et al. (1965)

^c Brown u. Crout (1971)

Tabelle 1: Eigenschaften von Fluor-haltigen Inhalationsnarkotika (aus: Ethrane, Herausgegeben von H. Kreuscher (91))

Enflurane besitzt im Vergleich zu anderen Anästhetika ein relativ hohes Molekulargewicht. Da bekannt ist, daß mit steigendem Molekulargewicht die Wirksamkeit, aber auch die Toxizität zunimmt, würde dies implizieren, daß Enflurane in narkotischer Hinsicht sehr wirksam, aber auch toxisch ist (1).

Dem treten aber der hohe Fluorierungsgrad dieser Verbindung entgegen, denn mit zunehmender Fluorierung nimmt die Toxizität ab. Dies hängt mit der chemischen Stabilität der C-F-Bindung zusammen, worauf aber noch später ausführlicher eingegangen wird. Ebenso bewirkt die Fünffachfluorierung eine Depression des Siedepunktes (Vergleich: Methoxyfluran Siedepunkt bei 104.7°C , Enflurane Siedepunkt bei 55.5°C). Bei Zimmertemperatur besitzt Enflurane ebenso wie Halothan einen relativ hohen Dampfdruck.

Der niedrige Blut-Gas-Verteilungskoeffizient bewirkt eine schnelle Narkoseeinleitung, da das Gleichgewicht der Partialdrucke in der Inspirationsluft und dem arteriellen Blut schneller erreicht wird. Ebenso bewirkt dieser Oswaldsche Verteilungskoeffizient von 1.91 (bei 37°C , 1 Atü) eine schnelle Eliminierung aus der Lunge. Die pulmonale Eliminierung ist bei Enflurane sogar noch schneller als die Aufnahme.

Der Öl/Gas- bzw. der Öl/Wasser-Verteilungskoeffizient ist ein Maß für die Verteilung des Narkotikums im Organismus und somit für seine Wirksamkeit.

Enflurane besitzt einen kleinen Gewebe/Blut-Verteilungskoeffizienten. Diese daraus resultierende geringere Gewebslöslichkeit beschleunigt die Einstellung des Diffusionsgleichgewichts im Organismus.

Die Lipidlöslichkeit ist entsprechend dem niedrigen Öl/Gas-Verteilungskoeffizienten sehr schlecht. Diese sollte in positiver Relation zum Molekulargewicht stehen, was aber beim Enflurane keine Rolle spielt, wiederum bedingt durch den hohen Fluorierungsgrad. Die Tatsache, daß Enflurane ein asymmetrisches Kohlenstoffatom besitzt, nämlich -CHFCl , hat einen Einfluß auf die narkotische Wirksamkeit, die dadurch erhöht wird.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß Enflurane, eine farblose Flüssigkeit von angenehmem ätherischen Geruch, ein gut wirksames Narkosemittel ist. Es ist zwischen 21 und 45 Grad Celsius nicht entflammbar, nicht explosiv und gegen chemische und physikalische Einflüsse sehr stabil. Daß es auch physiologisch inerte ist als vergleichsbare Inhalationsnarkotika, hängt mit seinem hohen Fluorierungsgrad zusammen.

2) Symptome nach Narkosen mit fluorierten Kohlenwasserstoffen

Der hohe Fluorierungsgrad drängt zu der Annahme, daß im Organismus durch Metabolisierung von Ethrane eine hohe Konzentration an abgespaltenem anorganischem Fluorid entstehen müßte. Dies wäre für den narkotisierten Patienten sehr toxisch und würde die verschiedensten Symptome hervorrufen (3,4).

In der Tat wurden nach Narkosen mit fluorierten Kohlenwasserstoffen Symptome beobachtet, die auf einen er-

höhten Serum-Fluorid-Spiegel zurückzuführen sind. So beschrieb 1966 Crandell et al.(6) ein Syndrom mit Polyurie, Dehydratation, Hypernatriämie, erhöhten Blutspiegeln an Harnsäure und Harnstoff, Gewichtsverlust und ansteigende Serumsmolarität, also teilweise Symptome, wie sie auch beim Diabetes insipidus beobachtet werden(7,8).

Die Abbildungen 1 und 2 aus einer Arbeit von Mazze et al.(7) sollen dies veranschaulichen.

Die Polyurie stellte sich als ADH-refraktär heraus (5). Fluorid soll die $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -abhängige ATP-ase hemmen (10), wodurch der Natrium-Transport in den Tubuli abnimmt (9). Die Abbildung 3 aus einer Arbeit von Andersen und Cascorbi soll dies illustrieren (9).

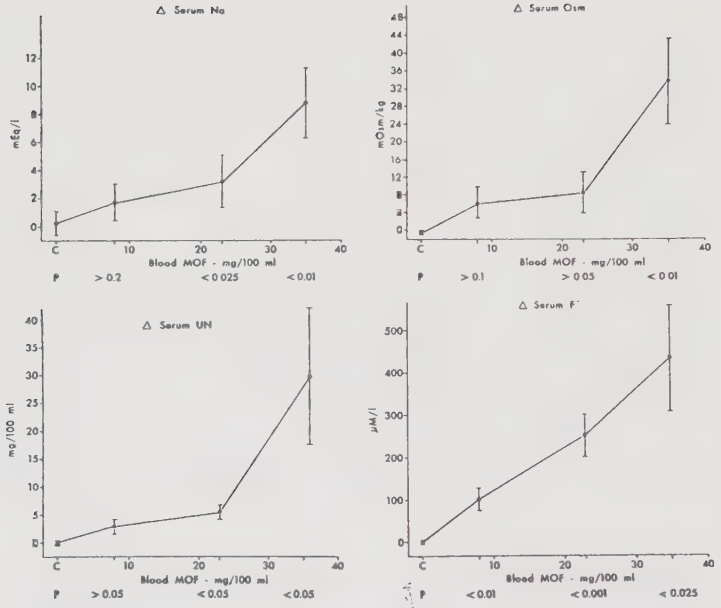


FIG. 1. Changes in serum sodium (Na), osmolality (Osm), urea nitrogen (UN), and inorganic fluoride (F⁻) at the time of peak response, days 1 and 2. Δ — mean preanesthetic-postanesthetic difference, ± standard error of the mean. Values are plotted at methoxyflurane (MOF) concentrations measured for each group: C = control rats, Group V; 8.1 mg/100 ml = Group I; 23.1 mg/100 ml = Group II; 35.3 mg/100 ml = Group III. P values compare preanesthetic-postanesthetic differences in each of the methoxyflurane groups with the values for the same periods in the control group. Dose-related hypernatremia, serum hyperosmolality, elevated blood urea nitrogen, and serum inorganic fluoride concentrations are present.

Abb. 1: Anstieg von Serum-Natrium, Serum-Osmolarität, Serum-Harnstoff und Serum-Fluorid nach Methoxyflurane-Anästhesie (7)

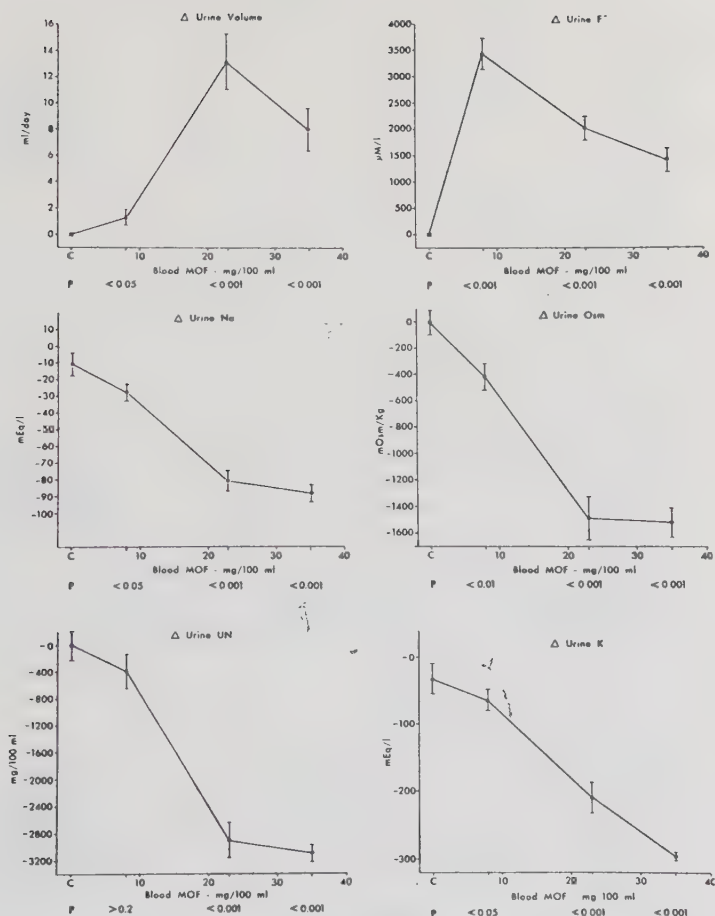


FIG. 2. Changes in 24-hour urine volume and urinary concentrations of inorganic fluoride (F⁻), sodium, osmolality, urea nitrogen, and potassium (K). Other abbreviations and symbols are the same as in figure 1. Marked increases in urine volume and inorganic fluoride concentration and dose-related decreases in urinary solute concentrations are seen after methoxyflurane anesthesia.

Abb.2:Veränderungen im Urin nach Methoxyflurane-Anästhesie(7)

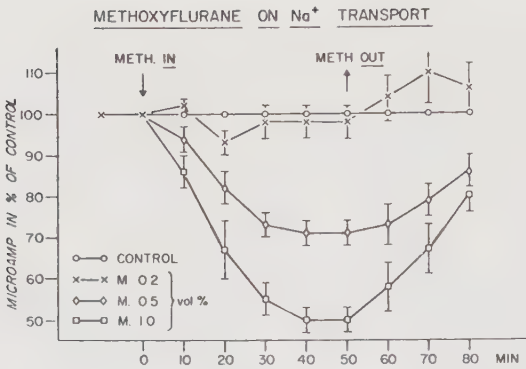


FIG. 1. Effects of three concentrations of methoxyflurane (Meth. or M) on sodium transport in toad bladders. Values are means $\pm$ SE for five bladders.

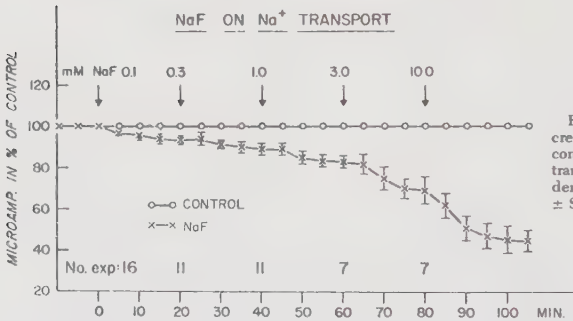


FIG. 2. Effects of increasing sodium fluoride concentrations on sodium transport in 16 toad bladders. Values are means $\pm$ SE.

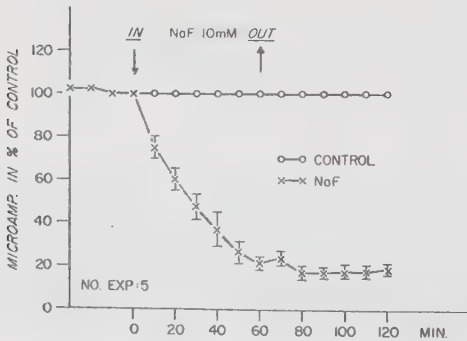


FIG. 3. Effect of 60-minute exposure to 10.0 mM sodium fluoride on sodium transport in five toad bladders. Values are means $\pm$ SE.

Abb.3: Dosisabhängige Abnahme des Natrium-Transportes nach Gabe von Methoxyfluran und Natriumfluorid (9)

Da durch die Hemmung der Natrium-Pumpe zugleich eine Interferenz mit dem zellulären Energietransport stattfindet, sieht man als histologisch-pathologisches Korrelat eine Schwellung der Mitochondrien (6).

Bei höheren Serum-Fluorid-Konzentrationen treten irreversible Nierenparenchymschäden auf (11).

Daß diese Nierenschäden durch anorganisches Fluorid und nicht durch andere Metaboliten des verwendeten Inhalationsnarkotikums hervorgerufen werden, konnte in vielen Experimenten bestätigt werden.

Es traten zum Beispiel nach Injektion von Natriumfluoridlösungen die gleichen Symptome auf, wie sie nach Methoxyflurananästhesie beobachtet wurden (12). Auf Grund der engen chemischen Verwandtschaft zwischen Methoxyfluran und Enflurane ergibt sich die Überlegung, daß möglicherweise bei letzterem ähnliche Symptome auftreten können, die ebenfalls auf eine Fluoridabspaltung zurückgeführt werden können.

Daraus resultiert die Frage, in welchem Ausmaß Enflurane metabolisiert wird und wie hoch die daraus resultierende Konzentration des abgespaltenen Fluorids im Serum ist.

II) EXPERIMENTELLER TEIL

1) Versuchsablauf in der Anästhesieabteilung

In der Anästhesieabteilung der Poliklinik der Universität München wurde folgender Versuch durchgeführt: 17 freiwillige, gesunde männliche Probanden wurden mit Ethrane narkotisiert.

Acht dieser Probanden wurden noch zusätzlich im Sinne einer Enzyminduktion verbehandelt.

Sie erhielten 0.2 mg Luminal^R (Phenobarbital) täglich vom 8.Tag vor der Narkose bis einschließlich 2.Tag vor der Narkose.

Der weitere Versuchsablauf war bei allen 17 Probanden gleich.

Fünf Minuten vor Anästhesieeinleitung wurde 0.5 mg Atropin verabreicht, drei Minuten vorher 2-3 mg Alloferin^R (Di-allyl-~~ner~~-toxiferin). Eingeleitet wurde die Narkose mit 0.3 mg/kg Körpergewicht Etomidate.

Dann wurde 80-100 mg (ungefähr 1.5 mg/kg Körpergewicht) Lysthenen^R (Suxamethonium) gegeben und intubiert.

Die Narkose wurde eine Stunde lang mit 1 Vol% Ethrane und N₂O/O₂ im Verhältnis 4:2(1/min) fortgeführt. Während dieser Zeit wurde mit dem Narkosepulmonat kontrolliert beatmet und zwar 10 ml/kg Körpergewicht x 12/min.

Nach Ablauf der Narkose wurde mit reinem Sauerstoff beatmet, kurze Zeit später wurde extubiert. Es wurden von jedem Probanden 10 Blutproben in folgenden zeitlichen Intervallen entnommen:

0', 10', 20', 30', 60', 90', 2h , 4h , 8h , 24h .

2) Fluoridnachweis im Serum

a) Problematik des Fluornachweises und der Abtrennung

Für diese Serumproben von der Anästhesie galt es, eine geeignete Fluoridbestimmungsmethode auszuwählen. Der Nachweis kleinster Mengen anorganischen Fluorids im biologischen Material gehört zu den schwierigsten Aufgaben der biochemischen Analytik (16). Diese Schwierigkeiten ergeben sich aus den Eigenschaften des Fluors, welches das chemisch reaktivste Element überhaupt ist (12). Will man Fluorid in organischen Verbindungen nachweisen, so bereiten zum einen die Stabilität und die hohe Aktivierungsenergie der C-F-Bindung, zum anderen die hohe Reaktivität des Fluors große Schwierigkeiten. Deshalb muß es zuerst aus biologischem Material isoliert werden, um die Störfaktoren zu eliminieren und erst dann kann es qualitativ oder quantitativ nachgewiesen werden.

b) Fluoridabtrennungsmethoden

Dafür sind in der Literatur folgende Verfahren beschrieben (18).

- 1) DESTILLATION mit Perchlorsäure (Willard, Winter (19)) oder mit Schwefelsäure, wobei das Fluorid als Fluorwasserstoff oder auch als Siliciumtetra-

fluorid SiF_4 übergetrieben wird. Letzteres kann dann titrimetrisch oder colorimetrisch bestimmt werden (20). Weitere Destillationsmethoden sind u.a. beschrieben bei Ballczo, Doppler, und Lanik (21), bei Singer, Armstrong (22), bei Brunisholz, Michod (23), und bei Cerny (24).

- 2) Da die Destillationsmethode sehr aufwendig und meist auch sehr ungenau ist, versuchte man die organischen Störstoffe durch trockene VERASCHUNG bei alkalischer Reaktion zu beseitigen. Es sind hierfür auch zahlreiche Varianten in der Literatur angegeben (25,26, 28).

- 3) Die Isolierung von Fluorid aus biologischem Material mittels PYROHYDROLYSE ist für kleine Fluoridmengen nicht geeignet.

- 4) Singer und Armstrong (27) beschrieben 1954 eine Methode, wonach Flußsäure H_2F_2 durch DIFFUSION über die Gasphase einer Diffusionszelle, die aus Polyäthylen besteht, abgetrennt wird (29,33).

Weitere Diffusionsmethoden wurden später entwickelt u.a. von Stegemann und Jung (30), Hall (31), Trere (32) und Chang und Thompson (34).

- 5) Es gibt noch weitere Methoden, die Fluorid aus bestimmten Verbindungen abtrennen können, so die Ionenaustauschmethode, die Papierchromatographie und die Präcipitationsmethode.

Da diese aber für die Fluoridanalyse aus biologischem Material, speziell in diesem Fall aus Serum, nicht so geeignet sind, soll hier nicht näher darauf eingegangen werden.

c) Nachweismethoden

Wenn Fluorid von seinen Störstoffen befreit ist, läßt es sich z.B. mit Hilfe folgender Methoden nachweisen:

1) GRAVIMETRIE

Da die Gravimetrie nur gute Ergebnisse bei Fluoridkonzentrationen über 0.2 mg/l liefert, ist sie für den Nachweis von sehr geringen Fluoridmengen, wie sie im biologischen Material normalerweise vorkommen, nicht geeignet.

2) TITRIMETRIE

Am häufigsten wird mit Thoriumsalz titriert. Bei der Methode von Willard und Winter (19) wird zu einer fluoridhaltigen Lösung eine Thoriumnitratlösung gegeben. Es entsteht zunächst Thoriumfluorid. Sobald alles Fluor verbraucht ist, erzeugt ein Überschuß von Thorium mit Alizarin einen rotvioletten Farblack. Es gibt viele verschiedene Titrationsmethoden, die andere Farblacke und Reagentien benutzen, die aber alle auf dem gleichen Prinzip beruhen.

Am besten durchgearbeitet sind die Methoden von Mc.Clure (28), Fellenberg (26) und Balczó, Kauffmann (35).

3) COLORIMETRIE

Diese Methode beruht auf der Fähigkeit von Fluorid, Metallkomplexe zu bleichen. Die Farbabschwächung kann dann visuell mit Standardproben oder instrumentell mit Spektralphotometern gemessen werden (14). Es gibt verschiedene Farbstoffe, die für den Fluorid-

nachweis geeignet sind, so z.B. der Lanthanum-Alizarin-Komplex (36,37,38) und der Zirkonium-Eriochromcyanin-Komplex (39). Von diesen Metallfarbverbindungen sind die des Aluminiums am geeignetsten, da in Anwesenheit von Natriumionen sehr stabile Fluorokomplexe gebildet werden (14,47). Ein sehr geeigneter Farblack aus dieser Reihe ist der Aluminium-Chromazurol-S-Komplex (40,41), der auch bei der Ringofenmethode nach Hauck und Terai (15) verwendet wird.

4) ENZYMATISCHE METHODEN

Es sind einige Methoden beschrieben (43,44), die recht genaue und spezifische Ergebnisse liefern, die aber andererseits sehr empfindlich sind und eine sehr genaue Standardisierung und Kontrolle der Versuchsbedingungen erfordern.

5) DIREKTE ELEKTROMETRISCHE BESTIMMUNG

Hierbei handelt es sich um eine neuere Methode, die auf der Bestimmung der Fluoridaktivität mittels einer fluoridsensitiven Elektrode beruht (45,46,47, 48,49). Die Nachweisgrenze soll bei 10^{-6} M liegen. Da diese Methode sehr störanfällig ist, muß bei der Bestimmung von Fluorid aus organischer Substanz dieses zuerst sehr sorgfältig abgetrennt werden.

3) Ringofenmethode

a) Allgemeine Beschreibung

Die aufgeführten Fluoridnachweismethoden sind entweder mit großem apparativen oder zeitlichem Aufwand verknüpft oder sie liefern speziell für die Fluoridbestimmung in biologischem Material nicht die erwünschten genauen Ergebnisse. Deshalb wurden von G.Hauck und H.Teraï (15) eine Methode zur Fluoridbestimmung in biologischem Material ausgearbeitet, die weder großen zeitlichen noch apparativen Aufwand erfordert und doch hinreichende Genauigkeit bietet.

Zugrunde liegt dieser Fluoridbestimmung die von Weisz (13,14,54) entwickelte Ringofenmethode. Diese hat breiten Eingang in die Analytik (53) und ein großes Betätigungsfeld in der Spurenanalyse gefunden, wobei nicht nur Metallionen, sondern auch Anionen getrennt und nachgewiesen werden können (51). Der Ringofen (Abb. 4,5) besteht aus einem zylindrischen Metallblock, der in der Mitte eine durchgehende vertikale Bohrung von 22 mm Durchmesser hat. In dieser ist eine Heizwicklung eingebaut; über einen Regelwiderstand kann die gewünschte Temperatur eingestellt werden. Diese soll um 5-10 Grad Celsius höher sein als der Siedepunkt des benützten Lösungsmittels.

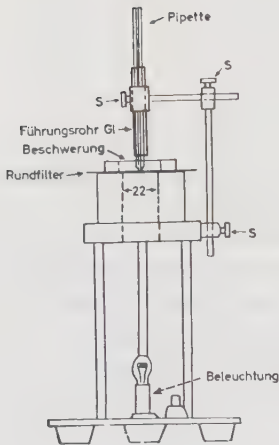


Abb.4: Der Ringofen nach Weiss
im Längsschnitt(51)

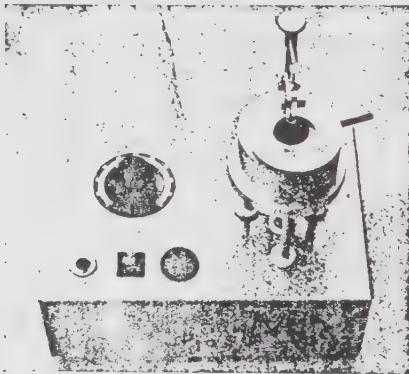


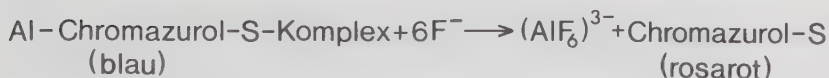
Abb.5: Der Ringofen
Modell "Rofa"
(51)

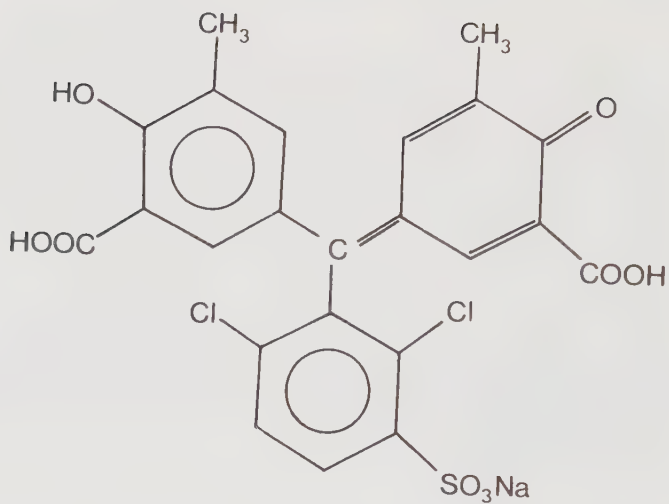
Auf die Lichtung der Bohrung wird ein Rundfilter gelegt, das mit der zu untersuchenden Probelösung vorbehandelt wurde. Diese wird durch Auftropfen von Lösungsmittel aus einer Kapillarpipette an den Rand der Lichtung ausgewaschen.

So entstehen auf dem Filterpapier definierte Ringe, deren Durchmesser nicht größer werden kann als der Durchmesser der Heizblockbohrung (vorausgesetzt, das Lösungsmittel läuft nicht zu schnell herunter und überschwemmt das Filterpapier), denn an der heißen Oberfläche verdampft das Lösungsmittel und die darin gelösten Anteile bleiben in definierten Ringen zurück.

Übertragen auf den Fluoridnachweis läßt sich der Vorgang folgendermaßen darstellen:

Der Aluminiumhexafluorokomplex ist in schwach saurem Milieu stabiler als der Aluminium-Chromazurol-S-Komplex. Auf Zugabe von Fluorid-Ionen zu Aluminium-Chromazurol-S-Komplex (blau) wird daher Chromazurol-S (rosarot) freigesetzt.





▲bb.6: Formel des Chromazurol-S

b) Genauer Versuchsablauf der Fluoridbestimmung mit dem Ringofen

Die Aluminium-Chromazurol-S-Lösung wird folgendermaßen hergestellt (14):

6 ml einer sauren Chromazurol-S-Lösung (0.15g Chromazurol-S in 5 ml 0.1-n HCl gelöst ad 50 ml H₂O) werden mit 1ml m/60 Aluminiumchlorid (pH ungefähr 3) und 2ml Pufferlösung versetzt. Die Pufferlösung erhält man, indem man 32g NH₄Cl und 200 ml H₂O, 40 ml CH₃COOH und 10 ml konzentrierte NH₄OH kühlt und mit NH₄OH auf einen pH von ungefähr 4.3 einstellt und dann auf 300 ml mit H₂O verdünnt.

Die mit Aluminiumchlorid und Pufferlösung versetzte Chromazurol-S-Lösung wird mit Äther im Scheidetrichter ausgeschüttelt. Am nächsten Tag wird die Lösung von der stark emulgierten Ätherschicht abgetrennt. Die Lösung wird mit gleichem Volumen einer 20 %igen Natriumnitratlösung versetzt.

Die so erhaltene Aluminium-Chromazurol-Lösung wird in die Mitte eines Rundfilters (5.5 cm Durchmesser, Schwarzbond, Schleicher und Schüll) so aufgetragen, daß ein runder Farbfleck von ungefähr 1cm Durchmesser entsteht. Anschließend wird dieses Filterpapier im Trockenschrank bei 60-70°C getrocknet. Die so hergestellten Filterpapiere sind kühl längere Zeit haltbar. Es ist lediglich darauf zu achten, daß keine Säuredämpfe vorhanden sind, da dies eine Dissoziation der Metallackverbindung verursacht, da violette Farbflecke entstehen. Das Filterpapier wird kurz über Eisessig geräuchert

und die fluoridhaltige Probelösung mit Hilfe einer Mikrospritze mit Mikroliter-Skala in die Mitte des präparierten Filterpapiers aufgetragen. Man läßt den Rundfilter ungefähr 10 Minuten im Trockenschrank bei 60-70°C trocknen, dann legt man ihn auf den Ringofen und läßt durch die Kapillarpipette 96 %-igen Alkohol mit idealer Tropfgeschwindigkeit zulaufen und kann so den rosaroten Chromazurol-Farbstoff auswaschen, der in Form eines bleistiftstrichdicken definierten Ringes sichtbar wird.

Die quantitative Bewertung dieser Farbringe erfolgt mittels einer Standardskala. Man setzt verschieden konzentrierte Natriumfluorid-Lösungen an, trägt sie auf die mit Aluminium-Chromazurol-S-Lack präparierten Filterpapiere auf und wäscht sie aus. So bekommt man mit zunehmender Fluoridkonzentration zunehmende Farbintensitäten der Ringe. Nun können durch visuellen Vergleich die Proberinge den Standardringen zugeordnet werden. Am besten läßt man mehrere Personen auswerten, da dann genauere Mittelwerte herauskommen. Die Schwierigkeit dieser Bestimmungsmethode liegt letzten Endes in der genauen Zuordnung der Ringe (52). Hauck und Terai (29) berichten von einer Standardabweichung von 15% bei Fluoridmengen von 0.01-0.1 µg. Unter Berücksichtigung der sehr geringen Konzentrationen und einer Auswertung ohne optische Geräte ist die Genauigkeit dieser Methode durchaus zufriedenstellend.

c) Fluoridisolierung

Terai (29) hat sich in seiner Dissertationsarbeit mit der Problematik der Fluoridisolierung aus biologischem Material befaßt und dabei einen Versuchsablauf entwickelt, der für diese Fluoridanalysen übernommen wurde.

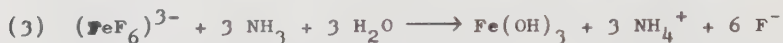
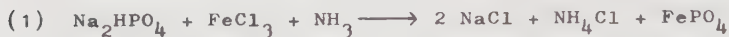
Um die Störkomponenten zu eliminieren, müssen zuerst die organischen Komplexbildner und die Phosphate zerstört werden. Dies geschieht, indem man die Probe trocknet und verascht. Hierbei entweichen zugleich die leicht flüchtigen Substanzen gasförmig, zu denen auch die organischen Fluoridverbindungen gehören. Somit kann nur noch anorganisches Fluorid in der Asche nachgewiesen werden.

Die Probe wird in eine eingefettete Petrischale gegeben und ungefähr eine Stunde bei ca. 60°C im Vakuum-trockenschrank getrocknet, da sie sich so besser veraschen läßt. Anschließend wird die Petrischale mit einem Spatel quantitativ ausgekratzt und die Probe in einem Tiegel mit einer Spatelspitze Natriumbicarbonat vermischt. Dadurch wird erreicht, daß der Fluoridverlust bei der Veraschung möglichst gering ist, da Natriumfluorid im Rückstand bleibt.

Nachdem die Probe ca. 1 Stunde im Muffelofen bei etwa 600°C verascht wurde, wird sie mit einem Pistill verkleinert und je nach Menge des verwendeten biologischen Materials in mit Salzsäure angesäuertem destilliertem Wasser gelöst. Danach werden 0.2 ml von der Aschesuspension und 0.1 ml Eisen (III)-Chlorid-Lösung (1% Fe)

in ein Reagensglas pipettiert, dann wird nochmals mit einem Tropfen Salzsäure angesäuert, mit ca. 0.1 mg Natriumacetat gepuffert und 0.1 ml Ammoniak (10%) langsam unter Schütteln dazugegeben.

Der Arbeitsvorgang läßt sich in folgenden Reaktionsgleichungen ausdrücken:



Die Zugabe von Eisen(III)-Chlorid und Ammoniak bewirkt, daß die im Rückstand verbliebenen Phosphate ausgefällt werden und nicht mit dem Aluminium-Chromazurol-S-Komplex reagieren können. Außerdem wird hierdurch erreicht, daß das Fluorid aus dem unlöslichen Calciumfluorid gelöst wird. Dies verläuft über den im sauren und neutralen Milieu sehr stabilen $(\text{FeF}_6)^{3-}$ -Komplex, der bei Zugabe von Ammoniak in Eisen(III)-Hydroxid und Ammoniumfluorid NH_4F gespalten wird.

Anschließend werden die Eisenverbindungen abzentrifugiert, im Überstand kann das isolierte Fluorid nachgewiesen werden. Dieser wird vorher noch etwas abgepuffert, um das pH-Optimum des Aluminium-Chromazurol-S-Farbstoffes zu erreichen.

Der Überstand wird mit einer Mikrospritze aufgezogen und somit können genau 1-10 μl Probelösung in die Mitte des Farbfleckes aufgetragen werden. Anschließend wird der Rundfilter getrocknet und der Farbkomplex mit Hilfe

des Ringofens ausgewaschen. Die Konzentrationsbestimmung erfolgt mit der Standardskala.

4) Vorversuche

Bevor mit dieser Methode Fluoridanalysen in Seren aus der Anästhesie durchgeführt wurden, mußten einige Vorversuche angesetzt werden, um die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit dieser Methode zu zeigen.

a) Feststellung der TROPFGESCHWINDIGKEIT:

Wenn das Lösungsmittel zu schnell tropft, läuft es über den Ofenrand hinaus und die Ringe werden verwaschen.

b) Ausführung vom BLINDPROBEN mit Reagentien und destilliertem Wasser, um zu sehen, ob deren Fluoridgehalt die Ergebnisse verfälschen könnten. Dies war nicht der Fall.

c) Aufstellung einer STANDARDSKALA:

Es wurden Ringe mit verschiedenen Natriumfluoridkonzentrationen hergestellt und nach steigenden Konzentrationen angeordnet. Diese wurden nochmals durch andere Personen im Labor visuell angeordnet und die Standardskala überprüft.

d) Einige Male erhielt man beim Auftragen der Fluoridprobe auch einen gelben Fleck. Dies beschrieb ebenfalls Terai (29). Daraufhin wurden Reagenzglasversuche gemacht, um die Ursache herauszufinden. Dabei fiel auf, daß bei Zugabe von Ammoniak zu Natriumfluorid sofort beim Auftragen ein gelber Fleck auf-

trat. Es muß also bei zu starker alkalischer Lösung der Farbstoff zerstört werden.

- e) Es wurden verschiedene Blutproben aufgearbeitet, um deren Fluoridgehalt festzustellen. Die gefundenen Fluoridwerte schwankten innerhalb eines Bereiches von $0.015 \text{ mg}\%$ - $0.197 \text{ mg}\%$, wobei der Mittelwert bei $0.03 \text{ mg}\%$ lag. Diese vorhandene Schwankung bei verschiedenen Blutproben ist normal, da der Fluoridgehalt im menschlichen Blut stark von exogenen Faktoren abhängig ist. Die in der Literatur angegebenen Fluoridwerte variieren sehr.

Tabelle 2 zeigt eine Zusammenstellung verschiedener Literaturwerte.

Literatur- stelle	F-Konzentration	Blut/Serum Plasma
Cousin et al (56)	1.9 μM	Serum
Maduska (55)	5.0 μM	Serum
Toxikologie- Fibel (90)	0.01-0.04 mg%	Blut
(76), (77)	0.016 mg%	Plasma
Dobkin (11)	0.0032 mg%	Serum
Stoelting (67)	0.0023-0.0038 mg%	Serum
Tab. 20 aus Riedmann (3)	alle Werte im Be- reich von 0.004-0.217 mg%	Blut Plasma
(95)	0.1-0.12 mg% 0.027-0.074 mg% 0.035-0.145 mg%	Blut und Serum

Tab.2: Zusammenstellung von Fluoridkonzentrationen,
die in der Literatur angegeben sind

f) Am Schluß der Vorversuche wurden Blutproben mit Natriumfluorid-Zusatz aufgearbeitet, um zu sehen, ob die Ergebnisse im Genauigkeitsbereich dieser Methode liegen. Es wurden zu 50g Blut (= 47.2 ml) 15mg Natriumfluorid gegeben, das entspricht einer reinen Fluoridmenge von 6.78mg, bezogen auf die Blutmenge von 100ml 14.36mg.

Anschließend wurden 5 Blutproben zu je 5g abpipetiert und nacheinander verarbeitet. Ebenso wurden noch 5g vom gleichen Blut ohne Fluoridzusatz entnommen.

So bekam man insgesamt 6 Blutproben und konnte auch zugleich eine Qualitätskontrolle durchführen.

Durch Mehrfachvergleich mit den Standardringen erhielt man Mittelwerte, die in Tabelle 3 zusammengestellt sind.

Tabelle 4 zeigt noch andere Vorversuche mit Fluoridzusätzen.

Probe	gefundene F-Konz. Mittelwerte aus Mehrfachbestimmungen	Fehlerabweichung
1	0.036 mg%	
2	16.02 mg%	+ 11.28 %
3	12.83 mg%	- 10.88 %
4	13.42 mg%	- 6.78 %
5	13.2 mg%	- 8.31 %
6	14.02 mg%	- 2.6 %

Mittelwert von Proben 2-6: 13.89 mg%
in der Probe vorhandener Fluorid-Wert: 14.396 mg%
(= Fluorid-Zusatz + gefundener Blutfluoridgehalt)

Tabelle 3: gefundene Fluoridkonzentrationen nach
Natriumfluoridzusatz im Blut

Blutmenge	Natriumfluorid-Zusatz	Fluorid-Zusatz	gefundene Fluoridmenge, Mittelwert
5g	2mg	19.06mg%	18.24mg%
5g	1mg	9.53mg%	10.12mg%
5g	1ml 10% NaF-Lsg	0.78mg%	0.693mg%
5g	0.25ml 10% NaF-Lsg	0.227mg%	0.241mg%
2ml	1ml 1% NaF-Lsg	0.15mg%	0.157mg%

Tab.4: Vorversuche mit Fluoridzusätzen

5) Fluoridbestimmung in Seren aus der Anästhesie

Nachdem Ergebnisse erzielt wurden, die durchaus der Genauigkeit dieser Methode entsprachen, konnten die Vorversuche abgeschlossen und die Seren aus der Anästhesie analysiert werden.

Die erhaltenen Chromazurole, deren Farbintensität der jeweiligen Fluoridkonzentration proportional ist, wurden mit der Standardskala verglichen. Es wurden noch weitere drei Personen zum Vergleichen herangezogen, um möglichst genaue Mittelwerte zu erhalten. Da von jeder Probe 2 Ringe ausgewertet wurden, erhielt man im ganzen 8 Fluoridkonzentrationen, von denen der Mittelwert als der entgeltliche Wert errechnet wurde. Es soll an einem Beispiel gezeigt werden, wie sich die entgeltlichen Fluoridkonzentrationen errechnen lassen:

Beispiel:

2 ml Serum trocknen

Zugabe von einer Spatelspitze Natriumbicarbonat
veraschen, dann in 0.5 ml angesäuertem destilliertem
Wasser lösen

0.2 ml Suspension abpipettieren

0.1 ml Eisen(III)-Chlorid und 0.1 g Natriumacetat
dazugeben

zu Überstand 0.1 ml Puffer pipettieren

1-5 µl auf Filterpapier auftragen

trocknen, mit Alkohol auswaschen

nochmals trocknen

mit Standardskala vergleichen

Angenommen der Probering von 2 μ l Probeflösung wird den Standardringen 0.001 μ g, 0.002 μ g, 0.003 μ g und 0.005 μ g zugeordnet, so errechnet sich die tatsächliche Fluoridkonzentration, unter Berücksichtigung der einzelnen Verdünnungsfaktoren, folgendermaßen:

Zuordnung zu 0.001 μ g entspricht einer Fluoridkonzentration von

$$\frac{0.001 \times 600 \times 2.5}{2} \left[\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \right] = 0.0375 \text{ mg\%}$$

Zuordnung zu 0.002 μ g entspricht 0.075 mg% etc.

Als Mittelwert dieser Vierfachbestimmung erhält man für dieses Beispiel eine Fluoridkonzentration von 0.103 mg%.

6) Gefundene Fluoridkonzentration nach Ethrane-Narkose

Die Tabellen 5 und 6 zeigen die Mittelwerte der gefundenen Fluoridkonzentrationen.

In Tabelle 5 bewegen sich die Mittelwerte der nicht-induzierten Gruppe zwischen 0.034-0.052 mg%, die der induzierten Gruppe zwischen 0.019-0.034 mg%. Der maximale Mittelwert wird von der nicht-induzierten Gruppe in 2 Stunden erreicht, von der induzierten Gruppe in 30 Minuten.

In Tabelle 6 liegen die mittleren Fluoridkonzentrationen der nicht-induzierten Gruppe im Bereich von 0.022-0.061 mg%, die der induzierten Gruppe im Bereich von 0.014-0.037 mg%.

Zeit	Nicht-induzierte Gruppe	Induzierte Gruppe
0 min	0.034 mg%	0.022 mg%
10 min	0.039 mg%	0.026 mg%
20 min	0.041 mg%	0.021 mg%
30 min	0.042 mg%	0.034 mg%
60 min	0.043 mg%	0.024 mg%
90 min	0.045 mg%	0.030 mg%
2 h	0.052 mg%	0.025 mg%
4 h	0.047 mg%	0.023 mg%
8 h	0.046 mg%	0.019 mg%
24 h	0.044 mg%	0.02 mg%

Tab.5: Gefundene Fluorid-Konzentrationen(Mittelwerte)
zu bestimmten Zeitpunkten nach Ethrane-Gabe

Nicht-Induzierte Gruppe		Induzierte Gruppe	
Proband 1	0.061 mg%	Proband 9	0.014 mg%
Proband 2	0.040 mg%	Proband 10	0.02 mg%
Proband 3	0.047 mg%	Proband 11	0.026 mg%
Proband 4	0.043 mg%	Proband 12	0.037 mg%
Proband 5	0.048 mg%	Proband 13	0.028 mg%
Proband 6	0.060 mg%	Proband 14	0.025 mg%
Proband 7	0.042 mg%	Proband 15	0.021 mg%
Proband 8	0.022 mg%	Proband 16	0.020 mg%
Proband 17	0.033 mg%		

Tab.6:Gefundene Fluoridkonzentrationen(Mittelwerte)
der einzelnen Probanden

III) THEORETISCHER TEIL

1) Diskussion

a) Toxizitätswerte

Bei der Ringofenmethode handelt es sich um eine halb-quantitative Methode, die in dem Meßbereich von 0.01-0.1 μg , wie er von Hauck angegeben wird, eine Fehlerabweichung von 15% zeigt. Da bei den Analysen der Seren aus der Anästhesieabteilung in einem Meßbereich von 0.001-0.01 μg , also an der untersten Nachweisgrenze, gearbeitet wurde, ist zu berücksichtigen, daß möglicherweise ein linearer Fehler auftritt, der höher als 15% ist. Trotzdem läßt sich mit dieser Methode nachweisen, daß die Fluoridkonzentration nach Ethrane-Narkose unterhalb der in der Literatur als toxisch angegebenen Grenze liegt, da toxische Konzentrationen im optischen Meßbereich der Methode liegen.

Die kurzzeitig aufgetretenen erhöhten Fluoridkonzentrationen besitzen noch keinen Toxizitätscharakter und können somit nicht die beschriebenen Nebenwirkungen auslösen.

Tabelle 7 zeigt eine Zusammenstellung von in der Literatur angegebenen Toxizitätswerten.

Tab. 7: Fluoridtoxizitätskonzentrationen: Literaturwerte

Literatur- stelle	Fluorid-Kon- zentration	Symptome	Narkotikum
Barr et al. (57)	50 μM = 0.095 mg%	Polyurie	Methoxyfluran bei Ratten
Mazze et al. (62)	190.4 μM = 0.367 mg%	klinisch manifeste Nierensympt.	Methoxyfluran
Cousins et al. (64)	50-60 μM = 0.095- 0.114 mg% 90 μM = 0.171 mg%	subklinische Nierenschä- den; mittel- schwere Nie- renschäden	MOF 2.5 h MAC MOF 5 MAC h
	80-175 μM = 0.152-0.333 mg%	schwer ver- laufende Nie- renschäden	7-9 MAC h
Gillies (69)	< 0.095 mg% = < 50 μM	keine rena- le Dysfunk- tion	
Dobkin (11, 68)	75 μM = 0.142 mg%	Polyurie, Salzretent.	MOF
Goldenberg (70)	200 μM = 0.38 mg%	renalere Par- enchymschä- den	NaF-Gabe bei Hyperthyreoi- dismus
Taves (68)	200-300 μM = 0.38-0.57 mg%	3-4facher Anstieg der Urinflußrate	MOF
Mazze (62)	50 μM = 0.095 mg%	Defekt im	MOF
Cousins (64)		Urinkonz. mech	
Taves (68)	100 μM = 0.19 mg%	manifeste Nierenfunkt. schaden	
	190.4 μM = 0.362 mg%	dauernder Nie- renschaden	
Creasser et al. (74)	105.8 μM = 0.201 mg%	Serum: Na $\uparrow$, Osm. $\uparrow$ Creatinin $\uparrow$	
	190.4 μM = 0.362 mg%	+ Polyurie, Ge- wicht, Durst	

b) Einzelne erhöhte Fluoridspiegel

In der Tabelle 5 zeigen die Probanden Nr.1 und Nr.6 eine höhere mittlere Fluoridkonzentration als die übrigen Probanden. Ebenso wurden noch bei den Probanden Nr.4, Nr.5, Nr.7 je ein erhöhter Fluoridwert gefunden. Dieser beträgt bei Proband Nr.4 0.077mg%, bei Proband Nr.5 0.089 mg% und bei Proband Nr.7 0.09mg%.

Vergleicht man diese Fluorid-Konzentrationen mit den Ethrane-Serumspiegeln, die auch bestimmt wurden(96), so haben vier dieser Probanden mit höheren Serum-Fluoridspiegeln auch einen höheren Ethrane-Serumspiegel. Dies mag eine Erklärung für die etwas höheren Fluorid-Spiegel sein. Ferner können auch meßtechnische und vor allem exogene Faktoren die schwankenden Werte bewirken, worauf im nächsten Kapitel noch näher eingegangen wird.

c) Faktoren, die Fluorid-Konzentrationen beeinflussen

d) Exogene Faktoren

Der Fluoridgehalt im menschlichen Organismus wird zum größten Teil von der Nahrungszufuhr determiniert. In Gegenden mit stärker fluoriertem Trinkwasser resultiert auch ein höherer Blutfluoridspiegel, ebenso wurde dieser nach Genuß von schwarzem Tee beschrieben. Ferner spielen hierbei auch eine Kariesprophylaxe mit Zahnpasten und Tabletten eine nicht zu vernachlässigende Rolle.

β) Unterschiede in der Metabolisierungsrate

Wenn nach Gabe von fluorierten organischen Verbindungen erhöhte Fluoridspiegel im Serum gefunden werden, so muß dieses zuerst von seiner Verbindung abgespalten werden. Dies geschieht mit Hilfe eines Enzymsystems. Die Leistung eines Enzymsystems ist aber keine definierte Konstante, die für jeden Menschen gleich ist, sondern eine Variable, die von genetischen Faktoren abhängt. Deshalb kann man von einer bestimmten Dosis nicht erwarten, daß zwei Individuen gleich darauf reagieren. Dies ist u.a. auch ein Grund, warum bei Kindern die Fluoridkonzentrationen nach Gabe von fluorierten Anästhetika stets niedriger waren als bei Erwachsenen.

γ) Konstitution der Patienten

Es wurde in zahlreichen Versuchen gezeigt, daß adipöse Patienten eine höhere Fluoridkonzentration aufweisen als normalgewichtige Personen (56). Erstere besitzen einen großen Fettspeicher, in den vermehrt das Narkosemittel aufgenommen wird, was durch einen hohen Lipid-Löslichkeitskoeffizienten noch verstärkt wird. Deshalb sind gerade bei diesen Patienten die Fluorid-Werte nach der Anästhesie erhöht, da viel mehr Anästhetikum dem Metabolismus zur Verfügung steht.

δ) Nierenfunktion

Da das abgespaltene Fluorid in der Niere ausgeschieden wird, spielt deren Funktion eine sehr wichtige Rolle. Es konnte gezeigt werden, daß bei herabgesetzter glomerulärer Filtrationsrate die Fluoridkonzentration im Serum ansteigt. Man sollte also vor

Gabe eines fluorierten Kohlenwasserstoffes immer Nierenfunktionsteste machen, um so der Ansammlung toxischer Fluoridkonzentrationen im Serum vorzubeugen (80).

ξ) Erniedrigte Fluoridkonzentrationen bei Kindern (67)

Dies hat neben einem unterentwickelten Enzymsystem noch weitere Gründe:

- höhere renale Clearance von Fluorid im Blut (78)
- größere Speicherung von Fluorid im Knochen
- schnellere Elimination des Narkosemittels in postoperativer Phase, da Kinder eine schnellere Atemfrequenz als Erwachsene besitzen
- meist auch geringere Fettspeicher

ζ) Veränderte Abbaugeschwindigkeit durch Medikamente

Pharmaka, wie z.B. Diphenylhydantoin oder Antikoagulantien verändern den Metabolismus dieser Narkosemittel

η) Calcium-Gehalt

Da Fluorid Calcium ausfällt, hängt der Serumspiegel an freien Fluorid-Ionen auch vom Serum-Calcium-Spiegel ab. Dieser beträgt normal 9-11 mg% im Serum, ist vermindert z.B. bei Tetanie, Niereninsuffizienz, vermehrt bei M.Recklinghausen und Vitamin D-Überdosierung. Antagonisten zu Calcium sind Phosphat und Kalium.

d) Gegenüberstellung induzierte-nicht-induzierte Gruppe

Vergleicht man die Fluorid-Konzentrationen der induzierten und der nicht-induzierten Gruppe, so zeigen

sich keine deutlichen Unterschiede. Sowohl induzierte als auch nicht-induzierte Probanden zeigen einen leichten Anstieg und Abfall, wobei zu berücksichtigen ist, daß die induzierte Gruppe einen niedrigeren Ausgangsfluoridspiegel besitzt und deshalb im ganzen Verlauf unterhalb dem Fluoridspiegel der nicht-induzierten Probanden bleibt.

Es zeigt sich hierbei wieder eine Korrelation zum Serum-Ethrane-Spiegel, der bei der induzierten Gruppe niedriger ist als bei der nicht-induzierten Gruppe (96).

Es ergaben sich Hinweise, daß das Fluorid-Maximum bei der induzierten Gruppe früher erreicht wurde als bei der nicht-induzierten Gruppe, aber auf Grund des geringen allgemeinen Anstiegs läßt sich keine signifikante Aussage im Sinne einer Enzyminduktion machen.

Da a priori die biologische Streuung von Fluorid sehr breit ist, läßt sich aus diesen Ergebnissen allein keine Enzyminduktion ableiten.

Hierüber findet man bei verschiedenen Autoren unterschiedliche Ergebnisse.

Cousins et al. (56) stellten nach Enzyminduktion bei Gabe von Ethranen einen starken Fluoridanstieg im Serum fest, während Maduska (55) keine Fluoriderhöhung nach Barbituratmedikation fand.

Loew et al. (79) gaben an, daß Isoflurane und Enflurane nicht induzierbar seien, hingegen Methoxyfluran.

e) Vergleich der Ergebnisse mit Literaturwerten

Wie aus den Tabellen 8 und 9 zu entnehmen ist, schwanken die Fluoridkonzentrationen innerhalb bestimmter Bereiche beträchtlich. Dies hängt in erster Linie mit den verschiedenen Versuchsbedingungen zusammen (verschiedene Narkosemittelkonzentrationen, unterschiedlich lange Expositionszeiten). Bei den kurzzeitig erhöhten Konzentrationen, wie sie z.B. Maduska (55) beschrieb, traten keine Nebenwirkungen auf.

Literatur-Stelle	Fluorid-Konzentration	Varia
Maduska (55)	Maximale Konzentration 0.095 mg% (50 μ M) mittlere Konzentration 0.0342 mg%	hoher Fluoridspiegel nur von kurzer Dauer; keine Polyurie
Cousins et al (56)	4 h postoperativ 0.039 mg% a) Max. Konz. 0.201 mg% b) Max. Konz. 0.099 mg%	postanästhet. Nierenfunktionen bei allen normal; 2 atypische Patienten: a) Enzyminduktion b) starke Adipositas
Barr et al. (57)	4 h postanästhetisch 0.0832 mg% 10 h postanästhetisch 0.1075 mg%	Experimente bei Ratten; leichte Polyurie bei verlängerter Enflurane-Exposition
Weiss-Carlini (92)	max. Mittelwert 22 μ M=0.0418 mg% 4 h postanästh.	2 erhöhte Werte: nach 90 min. 42 μ M=0.0798 mg% nach 120 min. 62 μ M=0.1178 mg% dieser Patient war adipös

Tabelle 3: Fluorid-Konzentration nach Ethrane-Narkose
Zusammenstellung aus verschiedenen Arbeiten

Literatur-Stelle	Fluorid-Konzentration	Varia
Murray et al.(59)	max. Mittelwert nach 4 h postanästh. 48 μM =0.0912 mg% absolut. Konz.Anstieg 18-106 μM =0.0342- 0.201 mg%	Methoxyfluran(MOF)
Fry et al.(60)	postanästh. 20.3 μM /l= 0.0386 mg%; 1 Tag da- rauf max. Mittelwert 0.0665 mg%(35 μM)	MOF
Cousins et al.(61)	Max. Mittelwert 1 Tag postanästh. 45.7 μM =0.0868 mg%	MOF
Weiss, Carlini (65)	nach 50 min. 22.5 μM =0.0428 mg% nach 60 min 28 μM =0.0532 mg% während Anästhesie max. 0.0665 mg%	0.2 Vol % MOF; 0.2+0.5 Vol% MOF 2 hohe Werte gefunden 0.1045 mg%(50 μM) nach 60 min 0.129 mg%(68 μM) nach 90 min keine Nierenaffektionen
Creasser (66)	0.0323 mg%(17.0 μM) 0.0419 mg%(21.9 μM)	während Entbindung 2h nach Entbindung; bei 2 Müttern hohe Konz. gefunden 0.118 mg%(62 μM) und 0.106 mg% (56 μM); keine renale Dysfunk- tion; MOF

Tabelle 9: Fluorid-Konzentration nach MOF- und Isofluran-Narkose; Zusammenstellung aus verschiedenen Arbeiten

Fertsetzung von Tabelle 9

Literatur-Stelle	Fluorid-Konzentration	Varia
Stoelting (67)	Max. Mittelwert 21.6 μM =0.041 mg% Max. Mittelwert 43.9 μM =0.0834 mg%	bei Kindern 24 h danach bei Erwachsenen 24 h danach; MOF
Hetrick et al.(5)	Max. Mittelwert 1 Tag postanästh. 32.9 μM =0.0625 mg% höchster Spiegel war 60.5 μM =0.1149 mg%	MOF keine renalen Probleme
Dobkin (11)	Mittelwert 19.91 μM = 0.0378 mg%; 2 höhere Werte: 40 μM =0.076 mg% 50 μM =0.095 mg%	MOF
Fry et al.(71)	Mittelwerte von 20- 60 μM =0.038-0.114 mg%	MOF
Mazze et al.(72)	Max.Mittelwert nach 6h:4.4 μM =0.0083 mg%; äußerster Wert 5.5 μM = 0.0105 mg%	Isoflurane
Dobkin et al.(73)	nach Anästhesie 3.6- 12 μM =0.0068-0.0228 mg%	Isoflurane
Creasser et al.(74)	max. nach 24 h 43.9 μM =0.0834 mg% max. nach 24 h 67.2 μM =0.128 mg% 120 μM =0.228 mg% 112 μM =0.213 mg% 110 μM =0.209 mg%	3 h MOF niedrige Dosis 5 h MOF niedrige Dosis 3 h 0.08-0.12 % MOF 3 h 0.06-0.10 % MOF

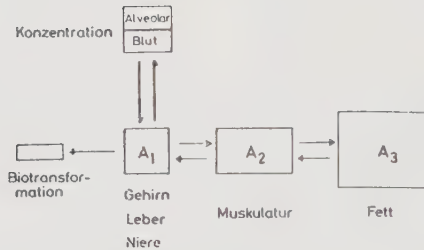
2) Pharmakodynamik von Inhalationsnarkotika

Um verstehen zu können, weshalb anorganisches Fluorid nach Ethrane-Narkose minimal ansteigt, muß man sich die Frage stellen, was eigentlich mit dem Enflurane im Organismus passiert, wie es verteilt wird, wo und in welchem Ausmaß es metabolisiert wird. Deshalb soll näher auf die Pharmakodynamik und den Metabolismus von Inhalationsnarkotika, speziell von Enflurane, eingegangen werden.

Nach dem Einatmen wird das Inhalationsgemisch im Respirationstrakt verdünnt. Es diffundiert durch die Alveolarmembran in den kapillaren Blutstrom der Lunge. Im Blut ist das Narkotikum teils physikalisch gelöst, teils an Plasmaproteine gebunden. Es wird dann über den Kreislauf den einzelnen Geweben zugeführt. Wird die Narkotikuzufuhr abgestellt, so findet eine Rückverteilung des Narkosemittels statt, wobei der größte Anteil über die Lungen abgeatmet wird. Bei manchen Narkotika wird ein Teil durch Metabolisierung inaktiviert. Wie hoch die Konzentration des Anästhetikums im Plasma ist, hängt u.a. von folgenden Faktoren ab (80).

- Konzentration im Inhalationsgemisch
- Geschwindigkeit der Resorption
- Verteilungs- und Löslichkeitskoeffizienten
- Affinität zu hochmolekularen Strukturbestandteilen
- Geschwindigkeit der Elimination

Der Weg des Narkotikums im Organismus kann mit dem 3-Kompartimentmodell beschrieben werden (Abb.7).



$$Y = A_1 \cdot e^{-K_1 t} + A_2 \cdot e^{-K_2 t} + A_3 \cdot e^{-K_3 t}$$

$$K = \frac{\text{Gewebedurchblutung}}{\text{Gewebevolumen} \times \text{Gewebe/Blut-Verteilungskoeffizient}} = \frac{Q}{C}$$

Abb. 5. Aufnahme, Verteilung, Rückverteilung und Elimination von Inhalationsanästhetika nach einem 3-Kompartimentmodell

Abb:7 (aus Rietbrock (80))

Die Verteilung zwischen den einzelnen Kompartimenten ist individuell verschieden und hängt von Herzzeitvolumen, alveolärer Ventilation, Gewebevolumen, Perfusion, Löslichkeitswerte des Narkotikums im Blut und Gewebe ab. Die Elimination der Ethrane durch die Lungen erfolgt auch exponentiell und kann durch folgende Gleichung ausgedrückt werden:

$$Y = A_1 e^{-K_1 t} + A_2 e^{-K_2 t} + A_3 e^{-K_3 t}$$

Y=Exkretionsmenge von Ethrane, die pro t ausgeatmet wird

k_n =Mengenkonstanten

A_n =Exkretionsmengen der vorgegebenen Kompartimente, extrapoliert auf die Zeit 0

Die Gesamtmenge der ausgeatmeten Ethrane lässt sich wie folgt errechnen:

$$A = \frac{A_1}{k_1} + \frac{A_2}{k_2} + \frac{A_3}{k_3} = \sim 82.7 \pm 18.8\%$$

der absorbierten Ethrane (58).

Aus den Eliminationskurven lassen sich auch die Halbwertszeiten für Enflurane errechnen. Diese betragen für das zentrale Kompartiment 17.8 min

die Muskulatur 3.2h

das Fettgewebe 36.7h

Abbildung 8 soll dies erläutern.

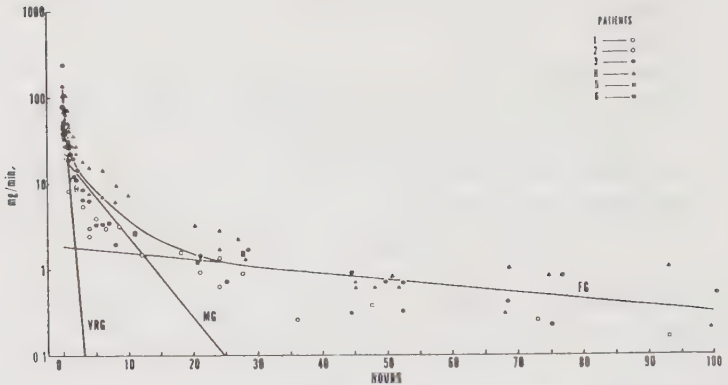


FIG. 1. The excretion of Ethrane in exhaled air following Ethrane anesthesia. The solid line represents the equation

$$Y = 91.6e^{-0.029t} + 20.6e^{-0.0036t} + 1.88e^{-0.00025t}$$

The experimental points are plotted for each patient. The straight lines are logarithmic functions representing the vessel-rich group (VRG), muscle group (MG), and fat group (FG).

Abb.8: aus Chase et al.(58)

Chase et al. (58) fanden, daß $82.7 \pm 18.8 \%$ der inhalierten Ethrane unverändert mit der Ausatemungsluft ausgeschieden werden. 2.4 % fanden sie als nicht-flüchtige, fluorhaltige Metaboliten im Urin, wobei das Verhältnis organisches Fluorid zu anorganischem Fluorid 3.8:1 beträgt.

Daß Enflurane im Vergleich zu anderen fluorierten Anästhetika nur gering metabolisiert wird (Abb.9), hängt sowohl mit seinem niedrigen Lipoid/Blut- und Blut/Gas-Koeffizienten (Abb.10), als auch mit seinen chemischen Eigenschaften zusammen.

Narkotikum		Untersuchungs- zeitraum(Tage)	Metabolisierungs- rate (%)
Halothane	Rehder u. Mitarb.1967	13	12-20
	Cascorbi u. Mitarb.1970	13	14-25
Methoxyflurane	Heladay u. Mitarb.1970	9-12	7-21(40)
Enflurane	Chase u. Mitarb.1971	17	2.4

Abb.9:Aus Rietbrock (80)

Tabelle 1. Verteilungskoeffizienten von halogenierten Inhalations-
anaesthetika in Blut und Fettgewebe(*berechnet mit Hilfe des langsa-
men slope k_1 von Halothan und Enfluran nach Untersuchungen
von Torri *et al.* [104] und dem Lipoid/Blut-Verteilungskoeffizienten
von Halothan)

Narkotikum	Verteilungskoeffizient	
	Blut / Gas	Fett / Blut
Halothane	2,3	60
Methoxyflurane	13,0	38
Enflurane	1,9	39 - 45 *
Isoflurane	1,4	

Abb.10: Aus Rietbrock(80)

3) Metabolismus von Enflurane (Vergleich mit Methoxyfluran und Isoflurane)

Der Metabolismus von Enflurane findet hauptsächlich in der Leber statt. Dieser erfolgt mit Hilfe eines substratspezifischen, NADPH- und O_2 -abhängigen arzneimittelabbauenden Enzymsystems, das in der Leber in den Membranen des glatten endoplasmatischen Retikulus lokalisiert ist (81, Abb. 11, 12).

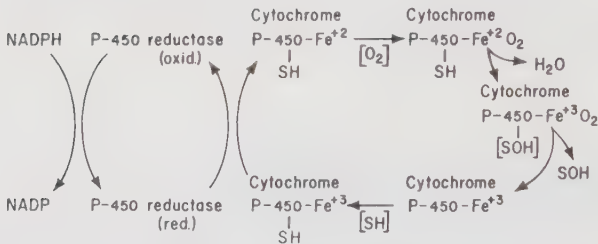


FIGURE 1 Scheme of events which are believed to occur in oxidation of drugs. Electrons are transferred from NADPH to cytochrome P-450 which reduces the iron (Fe) in the cytochrome from +3 to +2. The cytochrome, which also has bound the drug (SH) to it, can now take up O₂ and, by some unknown means, the electron and O₂ combine to form a hydroxyl (OH) group which is then added to the drug, thereby forming an oxidized drug which is released from the cytochrome and, being more water soluble, is excreted more readily.

Abb. 11: Aus van Dyke (82)

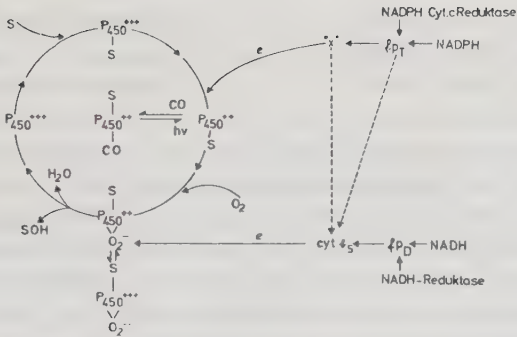


Abb. 3. Wirkungsweise des arzneimittelabbauenden Enzymsystems [41]. Cytochrom P_{450} bindet in oxydierter Form das Substrat (S). Der oxydierte Cytochrom P_{450} -Substratkomplex wird mittels Elektronen, die vornehmlich vom NADPH kommen, mit Hilfe der NADPH-Cytochrom C Reduktase reduziert und kann dann in reduzierter Form molekularen Sauerstoff (O_2) aufnehmen. In einer gekoppelten Reaktion oxydiert das eine O-Atom das Substrat (SOH) während das andere O-Atom zu H_2O reduziert wird. Unter Freiwerden von H_2O und oxydiertem Substrat geht das Cytochrom P_{450} in oxydierter Form hervor und der Reaktionszyklus kann erneut beginnen. Die Bestimmung des Cytochrom P_{450} -Gehaltes erfolgt über das Absorptionsspektrum des Cytochrom P_{450} -CO-Komplexes

Abb.12: Aus Rietbrock (80)

Loew et al. (79) postulierten für den Metabolismus von Methoxyfluran, Enflurane und Isoflurane jeweils 2 mögliche Wege.

a) für Methoxyfluran:(Abb.13)

Weg 1: Zuerst erfolgt eine O-Dealkylierung, hierbei entsteht das instabile 2-Dichlor-1-difluor-äthanol, das spontan in die Dichloressigsäure übergeht und 2 Atome anorganisches Fluorid abspaltet. Anschließend

wird die Dehalogenierung der Dihalogenessigsäure als 2. enzymatischer Schritt gefordert, die zur Oxalsäure führt; bei diesem Schritt werden 2 Atome Chlor frei.

Weg 2: Der erste Schritt ist die Chlorabspaltung, die zur Methoxydifluoressigsäure führt. Diese ist ein Substrat für die folgende Ätherspaltung, die über ein instabiles Zwischenprodukt zur Oxalsäure führt. Durch Radiomarkierung von Kohlenstoff konnte gefunden werden, daß Methoxyfluran zu 7-21% der Ätherspaltung unterliegt und zusätzlich 40% der Chlorabspaltung. Durch Isolierung von Zwischenprodukten konnte gezeigt werden, daß von Methoxyfluran der 1. Metabolisierungsweg begünstigt wird.

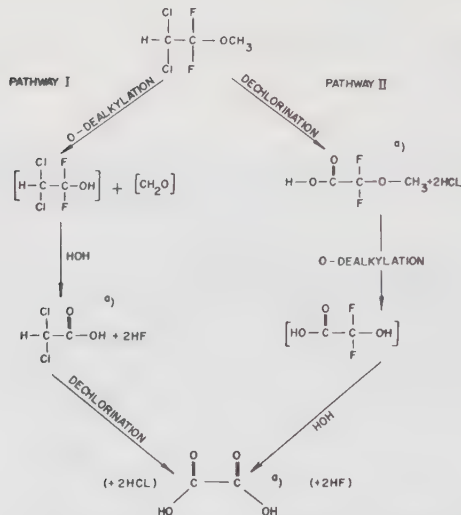


FIG. 1. Proposed metabolic pathways for the anesthetic methoxyflurane

Abb.13: Mögliche Metabolisierungswege für Methoxyfluran (aus Loew et al. (79)).

c) für Ethrane (Abb. 15)

Weg 1: Die Ätherspaltung führt über ein instabiles Zwischenprodukt zur Chlorfluoressigsäure, die durch das hohe Ausmaß an gefundenem organischen Fluorid impliziert wird. Hierbei werden 2 Atome Fluorid abgespalten. Als 2. Schritt folgt die Dehalogenierung, deren Produkt die Oxalsäure ist. Da aber kaum Oxalsäure gefunden wurde, wohl aber viel organisches Fluorid, wird angenommen, daß der 2. Schritt bei den Ethranen keine bedeutende Rolle spielt.

Weg 2: Die Dehalogenierung von Enflurane führt zur Difluormethoxydifluoressigsäure, die mit 4 Atomen Fluor ohne Zweifel eine Quelle des vielen organischen Fluorids ist, das gefunden wurde. Diese Säure ist dann Substrat für die Ätherspaltung, die zu einem instabilen Zwischenprodukt führt, das unter Abspaltung von 2 Atomen Fluor die Oxalsäure bildet. Da aber kaum Oxalsäure gefunden wurde, scheint dieser 2. Schritt viel weniger ausgeprägt zu sein als bei Methoxyfluran.

Wie von Isoflurane so wird auch von Enflurane der 2. Weg bevorzugt.

Der Enflurane-Abbau soll außerdem nur ca. 33% des Methoxyfluran-Abbaus betragen.

Die Metabelisierungsraten dieser 3 Inhalationsanästhetika zeigen folgende Reihenfolge:



Enflurane nimmt somit eine Mittelstellung ein.

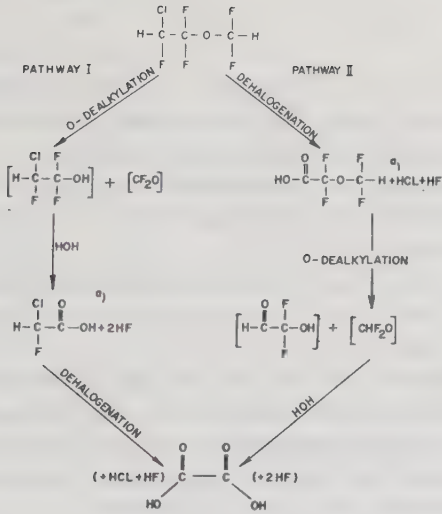


Abb.15: Vorgeschlagene Metabolisierungswege für Enflurane (aus Loew et al. (79))

4) Metabolisierungsschritte aus quantenchemischer Sicht

Loew et al. (79) versuchten durch quantenchemische Studien diese Metabolisierungswege zu erklären und ein theoretisches Fundament zu schaffen.

Sie bestimmten die Elektronenverteilung, die Bindungsdichte, die Nettoatomladungen und die Besetzung der Atomorbitale.

Abb. 16 zeigt diese Eigenschaften für Enflurane, Abb. 17 und 18 für die Zwischenprodukte von Enflurane aus den Abbauwegen 1 und 2.

Die Bindungsdichte ist ein Maß für die Elektronendichte zwischen 2 Atomen, die diese Bindung bilden. Je größer die Bindungsdichte ist, desto stabiler ist die Bindung. Die stärkste Bindung im Enflurane ist dementsprechend die $C_2 - C_3$ -Bindung.

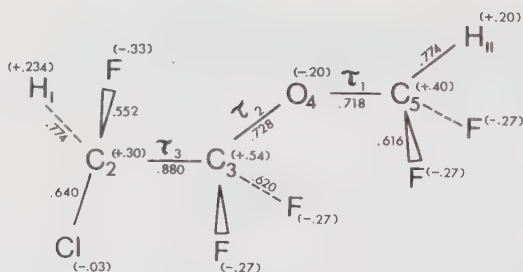


Abb.16: energieärmstes Konformer von Ethrane
(aus Loew et al.(79))

Zahlen mit + oder - in Klammern bedeuten die Netto-
ladungen der einzelnen Atome;

Zahlen auf Bindungen bedeuten die Bindungsdichte
zwischen zwei Atomen;

Bindungsabstände:

$$r(\text{C-F}) = 1.36 \text{ \AA}$$

$$(\text{C-F}) = 1.42 \text{ \AA}$$

$$(\text{C-H}) = 1.10 \text{ \AA}$$

$$(\text{C-Cl}) = 1.77 \text{ \AA}$$

$$(\text{C-C}) = 1.50 \text{ \AA}$$

energieärmstes Konformer:

$$\tau_1 = \text{C}_3\text{-O}_4\text{-C}_5\text{-H}_{\text{II}} = 180^\circ$$

$$\tau_2 = \text{C}_2\text{-C}_3\text{-O}_4\text{-C}_5 = 180^\circ$$

$$\tau_3 = \text{H(F)-C}_2\text{-C}_3\text{-O}_4 = 60^\circ$$

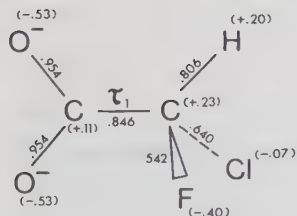


Abb.17: geometrische Strukturen, Bindungsdichten, Netto-
ladungen für Zwischenprodukt Fluorchloroessig-
säure von Metabolisierungsweg 1 (aus Loew et al.
(79))

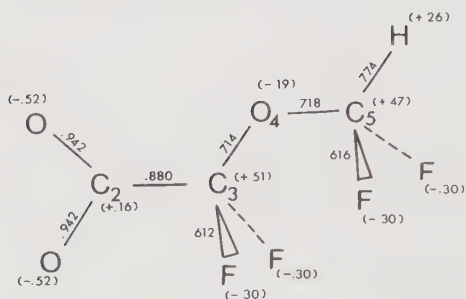


Abb.18: geometrische Strukturen, Bindungsdichten und Nettoladungen für Zwischenprodukt aus Weg 2 (aus Leew et al.(79))

Geometrische Parameter für Abb.17 und18:

$$r(\text{C-F}) = 1.36 \text{ \AA}$$

$$r(\text{C-O}) = 1.30 \text{ \AA}$$

$$r(\text{C-H}) = 1.10 \text{ \AA}$$

$$r(\text{C-Cl}) = 1.77 \text{ \AA}$$

$$r(\text{C-C}) = 1.50 \text{ \AA}$$

Winkel der Carbonyl-C-Bindung = 120° ; $\angle$ C-Bindungs-
winkel = 109.5°

zusätzlich für Abb.18:

$$r(\text{C=O})_{\text{ALD}} = 1.22$$

Es sollen nun im einzelnen die chemischen Reaktionsmechanismen der Metabolisierungswege dargestellt werden.

a) Die O-Dealkylierung beginnt mit einer Hydroxylierung des C-Atoms, das in alpha-Position zum Sauerstoff steht. Dies geschieht durch Einschlebung (Insertionsreaktion) eines aktiven Sauerstoffatoms, das als Ligand an Cytochrom P-450 gebunden ist, in die C-H-Bindung. Als Cofaktoren dienen O_2 und NADPH. Man nimmt an, daß der Sauerstoff noch im molekularen Zustand an das Eisen des aktivierenden Enzyms gebunden ist und "oxenoiden" Charakter hat, d.h. ein Elektronen-defizit aufweist ähnlich wie die Carbene. Die Insertion des O-Atoms wäre dann ein elektrophiler Angriff.

b) Bei der Chlorabspaltung werden mehrere enzymatische Prozesse diskutiert, doch es ist wahrscheinlich, daß bei der enzymatischen Chlorabspaltung auch molekularer Sauerstoff, NADPH und membrangebundenes Cytochrom P-450 benötigt werden, daß auch hier eine Insertion von aktiviertem Sauerstoff in eine C-H-Bindung des C-Atoms, an dem das Chlor hängt, stattfindet.

Dieser Insertion folgt dann eine spontane Umwandlung der Gruppierung $HO-\overset{\diagup}{\underset{\diagdown}{C}}-Cl$ zu $\overset{\diagup}{\underset{\diagdown}{C}}=O$. Je nachdem mit wieviel anderen Halogenen dieses C-Atom verbunden ist, entstehen dann Aldehyde bzw. Ketone oder Carbonsäuren. Ob bei Enflurane zuerst die Ätherspaltung und dann die Dehalogenierung oder der umgekehrte Mechanismus erfolgt, hängt von verschiedenen chemischen Faktoren ab, die die eine oder die andere Reaktion begünstigen.

Die Ätherspaltung, d.h. der elektrophile Angriff hängt von folgenden Faktoren ab:

- relative Nukleophilität des C-Atoms
- relative Nukleophilität des H-Atoms
- Bindungsstärke der C-H-Bindung

Als Maß für die Nukleophilität dienen

- die Nettoladung auf dem jeweiligen Atom
- die Elektronendichte des Orbitals, mit dem die C-H-Bindung bewerkstelligt wird
- die Energie der Elektronen, die an den aktiven Sauerstoff abgegeben werden

Betrachtet man diese Kriterien (Abb. 19) für die in Frage kommenden Substrate, nämlich Enflurane (Weg 1) und dem Zwischenprodukt von Weg 2, Difluormethoxydifluoressigsäure, so kann man folgende Aussage machen. Die Nettoladungen auf dem Methylkohlenstoffatom C_5 und dem gebundenen H-Atom sind so stark positiv, daß hier ein elektrophiles Sauerstoffatom nur ungern angreift und somit die Ätherspaltung nicht bevorzugt wird.

	$q_{C\text{-methyl}}$	$q_{H\text{-methyl}}$	P_{C-H}	P_H	$P_C(H)$
Enflurane	+0.40	+0.20	0.774	0.80	0.748(+0.2
Difluormethoxydifluoressigsäure	+0.47	+0.26	0.774	0.74	0.80 (+0.2

Abb.19: elektronische Eigenschaften von Enflurane und Difluormethoxydifluoressigsäure (aus Loew et al. (79))

- $q_{\text{C-methyl}}$ = Nettoladung von C_5
 $q_{\text{H-methyl}}$ = Nettoladung von H, das an C_5 gebunden ist
 $p_{\text{C-H}}$ = Elektronendichte zwischen C-H
 p_{H} = Elektronendichte im H-Atom, das an C_5 gebunden ist
 $p_c(\text{H})$ = p-Elektronendichte im C-Atomorbital, das H bindet
 $()$ = s-Elektronendichte im C-Atomorbital, das H bindet

Nimmt man an, daß die Chlorabspaltung auch über eine Insertionsreaktion verläuft, so gilt sinngemäß gleiches wie für die Ätherspaltung, nämlich je positiver jedes Atom und je weniger Elektronendichte in seinem bindenden Orbital, desto weniger leicht kann das elektrophile Sauerstoffatom angreifen. Hinzu kommt noch die Stärke der C-Cl-Bindung.

Auch die Elektronenverteilung zwischen der C-H-Bindung spielt bei der Dechlorierung eine wichtige Rolle.

	Fluoressig- säure (Weg1)	Enflurane (Weg)
$q_{C_{\infty}}$	+ 0.23	+ 0.30
q_H	+ 0.20	+ 0.23
P_H	+ 0.90	+ 0.77
$P_H^{(H)}$	+ 0.651 (+ 0.26)	
P_{C-H}	+ 0.806	+ 0.774
$P_C^{(C1)}$	+ 0.65 (+ 0.26)	+ 0.66 (+ 0.26)
P_{C-C1}	+ 0.640	+ 0.640

Abb.20: Kriterien für die Dehalogenierung von
Fluoressigsäure und Enflurane

Vergleicht man nochmals die elektronischen Eigenschaften der Abbildungen 19 und 20, so läßt sich jetzt leichter verstehen, warum aus quantenchemischer Sicht das Enflurane nach dem 2. Weg metabolisiert wird. Es wird zuerst dehalogeniert, dabei entsteht das Zwischenprodukt Difluormethoxydifluoressigsäure. Diese ist ein schlechtes Substrat für die folgende Ätherspaltung, so daß sie praktisch das Endprodukt des 2. Weges darstellt. Es wurden auch nur ganz minimale Mengen Oxalsäure gefunden. Folglich müßte pro Mol Enflurane ein Atom Fluor abgespalten werden. Enflurane wird somit im Vergleich zu Methoxyfluran in viel geringerem Maße metabolisiert.

5) Diskussion der Stabilität fluorierter Kohlenwasserstoffe

Die zu Beginn gestellte Frage, ob eine signifikant ansteigende Fluoridserumkonzentration nach Ethrane-Narkose zu erwarten ist, da die Verbindung fünffach fluoriert ist, läßt sich jetzt verneinen, da mit zunehmender Fluorierung die Stabilität des Moleküls zunimmt. Die C-F-Bindung ist beispielsweise fester als die C-Cl-Bindung. Dies liegt einerseits an der größeren Bindungsenergie von C-F (Abbildung 21), andererseits an dem geringen Bindungsabstand zwischen Kohlenstoff- und Fluoratom, der durch den kleinen Radius des Fluoratoms und der daraus resultierenden besseren Überlappung ihrer Elektronendichten zustande kommt (Abbildung 22).

Außerdem erhöht sich die Stabilität der C-Cl-Bindung, wenn am gleichen C-Atom noch ein Fluor eingeführt wird (84,86).

Bindung	Bindungsenergie kcal/mol ^a	Dipolmoment ^b
C-F	107.0	1.41
C-Cl	66.5	1.46
C-Br	54.0	1.38
C-I	45.5	1.19
C-H	87.3	0.4
^a aus Simons(1950) ^b aus Holland et al. (1964)		

Abb.21: Bindungsenergien und Dipolmomente von C-Halogenbindungen (aus (85))

Table 1. *Selected physical properties of the halogen atoms**

Atom	Covalent radius, Å	Van der Waals radius, Å	Electro- negativity value
F	0.64	1.35	4.0
Cl	0.99	1.80	3.0
Br	1.14	1.95	2.9
I	1.33	2.15	2.5
H	0.30	1.20	2.1

* Data from HOLLAND et al. (1964).

Abb.22: Physikalische Daten von Halogenen (aus 85))

Die Korrelation abnehmende Toxicität mit zunehmender Fluorierung macht man sich heute auch in vielen technischen Bereichen zunutze. Die Fluorderivate von Methan, Äthan und Cyclobutan beispielsweise sind unter dem Handelsnamen der Frigene^R bekannt. Sie werden als Treibmittel in Sprühdosen, für Kunststoffschäume, als Kältemittel, als Feuerlöschmittel und als Lösemittel für die chemische Reinigung eingesetzt (87).

Es wurden diese Mittel ausgiebigst in Inhalationsversuchen bei Tieren getestet, und auch bei Menschen, die diesen Mitteln viel ausgesetzt sind (88), konnte keine Fluoridtoxizität nachgewiesen werden (84,87,89).

Die Fluorkohlenwasserstoffe sind viel weniger toxisch als die vergleichweisen Chlorkohlenwasserstoffe, was man auch aus den MAK-Werten ersehen kann (Abbildung 23).

Maximale Arbeitsplatzkonzentration - Maximum allowable workshop concentration - Concentration maximale admissible de travail

			1958	197
Tetrachlorkohlenstoff	Carbon tetrachloride	Tetrachlorure de carbone	25 ppm	10 p
Chloroform	Chloroform	Chloroforme	100 ppm	50 p
Trichloräthylen	Trichloroethylene	Trichloroéthylène	200 ppm	50 p
Perchloräthylen	Perchloroethylene	Perchloroéthylène	200 ppm	100 p
1,1,1-Trichloräthan	1,1,1-trichloroethane	1,1,1-trichloroéthane	500 ppm	200 p
Frigen 11	Frigen 11	Frigen 11	1000 ppm	1000 p
Frigen 113	Frigen 113	Frigen 113	1000 ppm	1000 p
Frigen 12	Frigen 12	Frigen 12	1000 ppm	1000 p
Frigen 114	Frigen 114	Frigen 114	1000 ppm	1000 p

Abb.23 :Verschiedene MAK-Werte

6) Vergleich von organischen und anorganischen Fluorverbindungen

Vergleicht man die MAK-Werte der organischen Fluoridverbindungen mit den MAK-Werten anorganischer Fluoridverbindungen (Abbildung 24), so zeigt sich, daß letztere viel toxischer sind. Eine Ausnahme bildet die Fluoroessigsäure ($\text{F}-\text{C H}_2-\text{COOH}$). Sie ist die einzige natürlich vorkommende organische Fluorverbindung, die hoch toxisch ist. Dabei ist ihre Toxizität aber viel höher, als ihrem Fluorierungsgrad entsprechen würde (22). Diese beruht auf dem Eingreifen in den Zitronensäurecyclus. Die Fluoroessigsäure bildet im Organismus Fluoracetyl-Coenzym A, das mit Oxalacetat Fluorcitrat ergibt, welches die Aconitase hemmt und somit den Zitronensäurecyclus stört.

Verbindung	MAK-Werte
HF	3.0 ppm
F ₂	0.1 ppm
ClF ₃	0.1 ppm
BF ₃	1.0 ppm

Abb.24: MAK-Werte einiger anorganischer Fluorverbindungen (93)

Während man von den anorganischen Verbindungen weiß, wie sie im Organismus wirken, welche Symptome und Intoxikationserscheinungen sie hervorrufen und welche Toxikationswerte sie besitzen, kann man dies bei den verschiedenen organischen Fluorverbindungen nicht genau sagen. Ihre Toxizität hängt von sehr vielen Faktoren ab, wie der Grundstruktur des Gesamtmoleküls, der Verteilung im Organismus und vor allem der Metabelisierungsrate.

Während es sich bei Intoxikationen mit anorganischen Verbindungen auch um reine chemische Vorgänge handeln kann - die orale Applikation von Natriumfluorid beispielsweise führt im Gastrointestinaltrakt zur Bildung von Flußsäure ($\text{NaF} + \text{HCl} \rightarrow \text{HF} + \text{NaCl}$), die eine stark ätzende Wirkung ausübt und derartige Symptome wie blutiges Erbrechen, Diarrhoe, Flüssigkeits- und Salzverlust mit nachfolgendem Kollaps hervorruft (3) - handelt es sich bei der Giftwirkung von organischen Verbindungen um enzymatische Vorgänge, die von individuellen und exogenen Faktoren abhängig sind.

Erst wenn Fluorid abgespalten wird, dem aber die hohe Stabilität der C-F-Bindung und die Mehrfachfluorierung entgegenwirken, treten die Symptome der Fluor-Intoxikation auf.

Von der abgespaltenen Fluoridmenge sollen sich 0.17 % im Knochen ablagern (83), ein Teil wird durch die Niere ausgeschieden. Die verbleibende Serumkonzentration ist also eine Funktion von Aufnahme, Produktion, Knochenablagerung und Exkretion.

Man nimmt an, daß das Fluorid-Ion eine Reihe von Enzymen hemmt - besonders empfindlich gegenüber Fluorid sind die Lipasen und Phosphatasen - und außerdem (oder infolge der Enzymhemmung) eine Wirkung auf die physikalische Aktivität von Zellen wie Phagozytose, Beweglichkeit und Transport durch Zellmembranen hat; somit hemmt es oxydative Stoffwechselvorgänge (94).

Wenn man von Toxicität spricht, meint man einfach ausgedrückt, daß diese ein Maß für die Menge einer bestimmten Substanz ist, die gebraucht wird, um z.B. bei Versuchstieren pharmakologische Reaktionen hervorzurufen (84).

Nach dieser Definition sind alle Verbindungen toxisch, da immer eine Dosierung gefunden werden kann, die gewisse pharmakologische Effekte hervorruft.

Übertragen auf das Ethrane heißt dies, daß es bei vorschriftsmäßigem Gebrauch keinen Toxicitätswert besitzt.

IV) ZUSAMMENFASSUNG

17 männliche gesunde Probanden wurden eine Stunde lang mit 1 Vol% Ethrane narkotisiert. 8 dieser Probanden wurden noch zusätzlich im Sinne einer Enzyminduktion mit Phenobarbital verbehandelt.

Von jedem Probanden wurden 10 Blutproben in folgenden Intervallen abgenommen: 0', 10', 20', 30', 60', 90', 2h, 4h, 8h, 24h.

Die Serumproben wurden auf ihren Fluoridgehalt mit der Ringofenmethode untersucht. Dabei konnte bei beiden Gruppen - induzierte und nicht- induzierte Gruppe- ein leichter Fluoridanstieg und -abfall festgestellt werden. Die maximale mittlere Fluoridkonzentration überschritt nicht 0.061 mg%.

Die mittleren Fluoridkonzentrationen der nicht-induzierten Gruppe liegen im Bereich von 0.022-0.061 mg%, die der induzierten Gruppe im Bereich von 0.014-0.037 mg%.

Sichere Hinweise für eine Enzyminduktion ergaben sich nicht.

Es ließ sich mit dieser Methode zeigen, daß die Konzentration an anorganischem Fluorid, wie sie nach Ethrane-Narkosen auftraten, unterhalb der in der Literatur als toxisch angegebenen Werte liegen.

V) LITERATURVERZEICHNIS

- (1) John C. Krantz JR. und Frieda G. Rudo
Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Vol XX,
Pharmacology of Fluorides, Part 1, Chapter 10,
p 528-541
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1966
- (2) W. Forth, D. Henschler, W. Rummel
Allgemeine und spezielle Pharmakologie
Bibliographisches Institut
Mannheim, 1975
- (3) Guido Riedmann
Zur Toxikologie von Fluerverbindungen
Dissertationsarbeit
München, 1974
- (4) H. Fühner
Medizinische Toxikologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1951
- (5) W.D. Hetrick, B. Wolfson, D.A. Garcia, E.S. Siker
Renal Responses to "Light" Methoxyflurane
Anesthesia
Anesthesiology V38, No1, Jan 1973
- (6) Crandell WB, Pappas SG
Nephrotoxicity associated with Methoxyflurane
Anesthesia
Anesthesiology 27:591-607, 1966

- (7) R.I.Mazze, M.J.Cousins, J.C.Kosek
Dose-related Methoxyflurane Nephrotoxicity
in Rats: A Biochemical and Pathologic Correlation
Anesthesiology V36, No6, June 1972
- (8) Lebewitz
Nephrogenic diabetes insipidus following
Methoxyflurane Anesthesia
Anesth. Analg. (Cleve) 48:223-236, 1969
- (9) N.B.Andersen, H.F.Cassorbi
Effects of Methoxyflurane and two Metabolites
on Sodium Transport in the Toad Bladder
Anesthesiology V40, No4, Apr. 1974
- (10) Penzotti, Titus
Evidence for two forms of fluoride-treated
sodium and potassium-dependent adenosine
triphosphate
Mol. Pharmacol. 8:149-158, 1972
- (11) Allen B. Dobkin, Ashley A. Levy
Blood serum fluoride levels with Methoxy-
flurane Anesthesia
Canad. Anaesth. Soc. J, Vol 20, No1, Jan. 1973
- (12) Gary W. Whitford, Donald R. Taves
Fluoride-induced Diuresis: Renal tissue
solute concentrations, functional, hemo-
dynamic, and histologic correlates in the rat
Anesthesiology V39, No4, Oct. 1973

- (13) H.Weisz
Die Ringofenmethode
Microchim.Acta, Wien 1956,667
- (14) H.Ballczo,H.Weisz
Zum Nachweis des Fluorions
Microchim.Acta,Wien 1957
- (15) G.Hauck,H.Terai
Fluorbestimmung in biologischem Material
mit dem Ringofen
Microchimica Acta (Wien),1968,979-980
- (16) Hoppe-Seyler/Thierfelder
Handbuch der physiologischen und pathologischen
chemischen Analyse,
10.Auflage,Band 3
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955
- (17) Cotton,Wilkinson
Anorganische Chemie
2.verbesserte Auflage, Verlag Chemie,GmbH
Weinheim,Bergstrasse 1968
- (18) A.M.G.MacDonald
Handbuch der experimentellen Pharmakologie
Vol XX,Pharmacology of fluorides,Part 2,
chapter 1,p 7-47
Springer-Verlag,Berlin-Heidelberg-New York 1966

- (19) Willard, Winter
Volumetric method for determination of
fluorine
Ind. Eng. Chem. Anal. Ed 5, 7-10 (1933)
- (20) Mayrhofer, Wasitzky
B. Z. 204, 62 (1929)
Microchem. 20. 29 (1936)
- (21) Ballese, Deppler, Lanik
A rapid micro-determination of fluoride by
distillation and absorption
Microchim. Acta (Wien), 809-822 (1957)
- (22) Singer L, Armstrong W. D.
Determination of fluoride in blood serum
Anal. Chem. 31, 105-109 (1959)
- (23) Brunisheld G., Michod J.
The separation of fluorine by distillation
according to Willard and Winter
Helv. Chim. Acta 37, 874-878 (1954)
- (24) Morris R. L., Cerny J.
Fluoride distillation method using controlled
air jet
J. Amer. Water Works Ass 48, 449-454 (1956)
- (25) Smith O. D., Parks T. D.
Volumetric determination of fluorine involving
distillation from a sulfuric acid solution
Anal. Chem. 27, 998-1000 (1955)

- (26) Fellenberg T.V.
Mitt.Geb.Lebensmittelunters.Hyg.39,124
- (27) Singer L.,Armstrong W.D.
Determination of fluoride;Procedure based
upon diffusion of hydrogen fluoride
Anal.Chem.26,904-906(1954)
- (28) Mc.Clure,F.J.
Industr.eng.Chem.analyt.Ed.11,171(1939)
- (29) H.Terai
Eine Methode zur Fluoridbestimmung und ihre
Anwendung in der forensischen Toxikologie
Inaugural-Dissertation
Freiburg,1967
- (30) Stegemann H.,Jung G.F.
Abtrennung von Fluorwasserstoff durch Diffu-
sion und Mikroanalyse von Fluorid
Z.physiolog.Chem.315,22.227(1959)
- (31) Hall R.J.
The determination of microgram amounts of flue-
rine by diffusion
Analyt.85,560-563(1960)
- (32) Frere F.J.
A microdiffusion method for the determination
of fluorides
Microchem.J.G.167-170(1962)

- (33) Singer L., Armstrong W.D.
Determination of fluoride, Procedure based upon
diffusion of hydrogen fluoride
Anal. Biochem. 10, 495-500 (1965)
- (34) Chang C.W., Thompson C.R.
An improved diffusion method for determining sub-
microgram amounts of fluoride in biological samp-
les
Microchem. J. 8, 407-414 (1964)
- (35) Ballco H., Kauffmann O.
Mikrochem. 38, 237 (1951), 39, 13 (1952)
- (36) Belcher R. et al.
Submicro-methods for the analysis of organic
compounds, Part X. Determination of Fluoride
J. chem. soc. 3577-3579 (1959)
- (37) Hall R.J.
The spectrometric determination of submicrogramm
amounts of fluorine in biological specimens
Analyt. 88, 76-83 (1963)
- (38) Fernandopulle, MacDonald
Spectrometric determination of fluorine inorganic
compounds
Microchem. J. 11, 41-53 (1966)
- (39) Ashley R.A.
Zirkonyl-alizarin chelate in spectrometric de-
termination of trace amounts of fluorine
Anal. Chem. 32, 834-836 (1960)

- (40) MacNulty, Woollard L.D.
Determination of microgram quantities of fluoride
V. Use of the aluminium-chromazurol-S-complex
Anal. Chim. Acta 14, 452-456 (1956)
- (41) O. Koch, G. A. Koch-Dedic
Handbuch der Spurenanalyse, 2. Auflage, Bd. I
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1974
- (42) Hunter, MacNulty, Terry
Determination of microgram quantities of fluoride
I. Use of the aluminium-haematoxylin complex
Anal. Chim. Acta 8, 351-368 (1953)
- (43) Mc. Gaughey, Stowell
Estimation of a few nanograms of fluoride in presence of phosphate by use of liver esterase
Anal. Chem. 36, 2344-2350 (1964)
- (44) Linde H.W.
Estimation of small amounts of fluoride in body fluids
Anal. Chem. 31, 2092-2094 (1959)
- (45) C. R. Edmond
The fluoride activity electrode, A preliminary study of its Analytical Application
unveröffentlicht
- (46) Fry, Taves
Serum fluoride analysis with the fluoride electrode
J. Lab. Clin. Med., June 1970, Vol 75, No 6

- (47) Paul J. Ke, Lloyd W. Regier, Henry E. Power
Determination of Fluoride in Biological samples
by a Nonfusion Distillation and Ion-selective
Membrane Elektrode Method
Analytical chemistry Vol 41, No8, July 1969
- (48) P. Venkateswarlu, L. Singer, W. D. Armstrong
Determination of Ionic (plus) ionizable fluoride
in biological fluids-Procedure based on adsorption
of fluoride ion on calcium phosphate
Analytical Biochemistry 42, 350-359 (1971)
- (49) W. Selig
Microdetermination of fluoride in the presence of
phosphate by potentiometric titration
Microchimica Acta (Wien) 1970, 229-234
- (50) F. Feigl
Tüpfelanalyse, Bd I, Anorganischer Teil,
4. dt. Auflage, Akademische Verlagsgesellschaft
Frankfurt/Main, 1960
- (51) E. Graf, Fr. R. Preuß
Gadamers Lehrbuch der Toxikologie und Anleitung
zur Ausmittelung der Gifte, Bd II, Allg. Methoden
Göttingen, Vandenhoeck+Ruprecht 1966
- (52) W. Knödel, H. Weiss
Mathematisches zur kolor. Analyse mit dem Ringofen
Mikrochim. Acta, Heft 3-4, Wien 1957

- (53) H. Ballczo
Eine Erweiterung der Ringofenmethode
Mikrochim. Acta (Wien) 1959, 314
- (54) H. Weisz
Anwendung des Ringofens in der Tüpfelkalorimetrie
Microchim. Acta (Wien) 1954, 140
- (55) A. L. Maduska
Serum inorganic fluoride levels in patients receiving Enflurane anesthesia
Anesth. Analg. Cleveland 53:351-353, No 3, May-June 1974
- (56) Cousins, Greenstein, Hitt, Mazze
Metabolism and renal effects of Enflurane in man
Anesthesiology V44, No 1, Jun 1976
- (57) Barr, Cousins, Mazze et al.
A comparison of the renal effects and metabolism of Enflurane and Methoxyflurane in Fischer 344 rats
J. Pharmacol Exp Ther 188:257-264, 1974
- (58) Chase et al.
The biotransformation of Ethrane in man
Anesthesiology V35, No 3, Sept 1971
- (59) W. J. Murray, P. J. Fleming
Defluorination of Methoxyflurane during anesthesia: Comparison of man with other species
Anesthesiology V37, No 6, Dec 1972

- (60) Fry, Taves, Merin
Fluorometabolites of Methoxyflurane-Serum Concentrations and renal clearances
Anesthesiology V38, No1, Jan 1973
- (61) Cousins, Nishimura, Mazze
Renal effects of low-dose Methoxyflurane with cardiopulmonary bypass
Anesthesiology V36, No3, Mar 1972
- (62) Mazze, Trudell, Cousins
Methoxyflurane metabolism and renal dysfunction: Clinical correlation in man
Anesthesiology V35, No3, Sept 1971
- (63) van Dyke, Wool
Metabolism of Methoxyflurane: Release of inorganic fluoride in human and rat hepatic microsomes
Anesthesiology V39, No6, Dec 1973
- (64) Cousins, Mazze
Methoxyflurane nephrotoxicity: A study of dose-response in man
J.A.M.A. 225, 1611 (1973)
- (65) V. Weiss, Ch. de Carlini
Methoxyflurane and serum fluoride concentrations during anesthesia and postoperative renal function
Anästhesist 24, 60-66 (1975), Springer Verlag 1975

- (66) Creasser, Stoelting et al.
Methoxyflurane metabolism and renal function after
Methoxyflurane analgesia during labor and delivery
Anesthesiology V41, No1, July 1974
- (67) Stoelting, Peterson
Methoxyflurane anesthesia in pediatric patients:
Evaluation of anesthetic metabolism and renal function
Anesthesiology V42, No1, Jan 1975
- (68) Taves, Fry, Freeman
Toxicity following Methoxyflurane anesthesia.
II) Fluoride concentrations in nephrotoxicity
JAMA 214:91-95, 1970
- (69) Gillies
Symposium-Anesthesia and the kidney
University of Manitoba, Winnipeg Nov 1971
- (70) Goldenberg L.
Rev. Soc. Med. Int. Soc. Tisiolog. 6:217(1931)
- (71) Fry, Taves, Merin
Fluorometabolites of Methoxyflurane-Serum concentrations and renal clearances
Anesthesiology 38:38-44, 1973
- (72) Mazze, Cousins, Barr
Renal effects and metabolism of Isoflurane in man
Anesthesiology V40, No6, Jan 1974

- (73) Dobkin et al.
Blood serum fluoride levels with enflurane(Ethrane)
and isoflurane(Forane) anesthesia during and following
major abdominal surgery
Can.Anaesth.Soc.J.20:494-498,1973
- (74) Creasser,Stoelting
Serum inorganic fluoride concentrations during and
after Halothane,Fluroxene and Methoxyflurane
anesthesia in man
Anesthesiology V39,No5,Nov 1973
- (75) Cousins,Mazze,Barr,Kosek
A comparison of the renal effects of Isoflurane
and Methoxyflurane in Fischer 344 rats
Anesthesiology V38,No6,June 1973
- (76) Frank A.Smith
Handbuch der exp.Pharmakologie,Vol XX, Pharma-
cology of fluorides,part 1,chapter 2,p 92
Springer-Verlag,Berlin-Heidelberg-New York 1966
- (77) Carlson,Armstrong,Singer
Distribution and excretion of radiofluoride in
the human
Proc.Soc.exp.Biol.(N4),104,235-239(1960)
- (78) Frank A.Smith
Handbuch der exp.Pharmakologie,Vol XX, Pharma-
cology of fluorides,part 1,chapter 2,p 121-122
Springer-Verlag,Berlin-Heidelberg-New York 1966

- (79) Loew, Motulsky, Trudell, Cohen, Hjelmeland
Quantum chemical studies of the metabolism of the
inhalation anesthetics Methoxyflurane, Enflurane
and Isoflurane
Molecular Pharmacology 10, 406-418
- (80) I. Rietbrock
Biotransformation von Inhalationsanästhetika und
ihre Bedeutung für klinische Nebenwirkungen
Anästhesist 24, 381-391 (1975)
- (81) I. Rietbrock
Tierexperimentelle Untersuchungen der Leberfunk-
tion unter Ethrane und Halothan
Ethane, Proceeding of the first European Symposium
in modern anesthetic agents
Hamburg, Nov. 1973, Springer-Verlag Heidelberg 1974
- (82) van Dyke
Biotransformation of volatile anesthetics with
special emphasis on the role of metabolism in the
toxicity of anesthetics
Canad. Anaesth. Soc. J., Vol 20, No1, Jan 1973
- (83) V. Fiserova-Bergerova
Changes of fluoride content in bone: An index of
drug defluorination in vivo
Anesthesiology V38, No4, April 1973
- (84) W. Gulden
Sind Fluorkohlenwasserstoffe toxisch?

Sonderdruck aus aerosol report 12,248-259,
Dr.Alfred Hüthig Verlag Heidelberg,1973

(85) Frank A.Smith

Handbuch der exp. Pharmakologie Vol XX, Pharmacology of Fluorides,part 2,chapter 7,p 256ff
Springer-Verlag,Berlin-Heidelberg-New York 1966

(86) J.W.Clayton

Fluorecarbon Toxicity:Past,Present,Future
J.Soc.Cosmetic Chemists,18,333-350(May 27,1967)

(87) W.Weigand

Untersuchungen über die Inhalationstoxizität von
Fluorderivaten des Methan,Äthan und Cyclobutan
Zbl.Arbeitsmedizin 1971/5, Karl F.Haug Verlag
Heidelberg

(88) G.Paulet

Physiologische Wirkung der Fluorkohlenwasser-
stoffe auf den Organismus
Sonderdruck aus aerosol report,Heft 12(1969),
S 612-622,Dr.Alfred Hüthig Verlag,Heidelberg

(89) J.Scholz

Neue toxikologische Untersuchungen einiger als
Treibgas verwendeter Frigen-Typen; Sonderdruck
aus Fortschritte der biologischen Aerosol-Forschung
in den Jahren 1957-1961, Friedrich-Karl Schattauer
Verlag,Stuttgart

- (90) W.Wirth,G.Hecht,Chr.Gloxhuber
Toxikologie-Fibel
Georg-Thieme Verlag,Stuttgart 1967
- (91) H.Kreuscher(Herausgeber)
Ethrane:Neue Ergebnisse in Forschung und Klinik
Symposium am 15.März 1975 in Osnabrück
F.K.Schattauer Verlag,Stuttgart-New York 1975
- (92) Weiss,Ch.de Carlini
Enflurane metabolism and postoperative renal function
unveröffentlicht
- (93) R.Y.Eagers
Toxic properties of fluorine compounds
Elsevier publishing company LTD
Amsterdam-London-New York 1969
- (94) Berthold Mueller
Gerichtliche Medizin Teil 2
Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York 1975
- (95) B.Flaschenträger(Herausgeber)
Physiologische Chemie,BandI,Stoffe,Lehr-und Hand-
buch für Ärzte,Biologen und Chemiker
Springer-Verlag,Berlin-Göttingen-Heidelberg 1951
- (96) B.Kreuter
persönliche Mitteilung (1976)aus geplanter
Dissertation; Anästhesieabteilung der Poliklinik
München,Prof.Doenicke

Lebenslauf

11. März 1952	Geboren in Lindau/Bodensee Eltern: Franz-Xaver Fink (†) Elisabeth Fink geb. Engl
September 1958	Eintritt in die katholische Volksschule Lindau/Aeschach
September 1962	Eintritt in das Städtische Mädchenrealgymnasium Lindau/Bodensee
29.6.1971	Reifeprüfung am Städtischen Gymnasium Lindau/Bodensee
WS 1971/72 bis WS 1973/74	Studium der Chemie und Physik für Realschullehramt an der Ludwig Maximilian-Universität München
ab SS 1974	Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilian-Universität München Anrechnung der Studien Chemie und Physik als zwei vorklinische Fachsemester durch das Bayer. Staatsministerium des Innern
21. März 1975	Ärztliche Vorprüfung
Juli 1975	Beginn der Dissertationsarbeit im Institut für Rechtsmedizin der Universität München
30. März 1976	I. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Dezember 1976	Fertigstellung der Dissertationsarbeit
17. März 1978	II. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
April/Mai 1979	III. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

